

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro


**INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)**

| | | | |
|--|--|---|--|
| (51) Internationale Patentklassifikation⁶: C12N 15/11, A61K 31/70, C07H 21/00, C12Q 1/68 | | A2 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/25819 |
| | | | (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. Mai 1999 (27.05.99) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06868 | | (81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). | |
| (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Oktober 1998 (29.10.98) | | Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i> | |
| (30) Prioritätsdaten: 197 50 702.6 15. November 1997 (15.11.97) DE | | | |
| (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE). | | | |
| (72) Erfinder; und | | | |
| (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PEYMAN, Anuschirwan [DE/DE]; Zeilsheimer Strasse 46, D-65779 Kelkheim (DE). UHLMANN, Eugen [DE/DE]; Zum Talblick 31, D-61479 Glashütten (DE). WEISER, Caroline [DE/DE]; Karl-Staib-Strasse 37, D-65795 Hattersheim (DE). | | | |
| (74) Gemeinsamer Vertreter: HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH; Patent- und Lizenzabteilung, Gebäude K 801, D-65926 Frankfurt am Main (DE). | | | |

(54) Title: ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES AGAINST TENASCIN FOR TREATING VITILIGO**(54) Bezeichnung:** ANTISENSE OLIGONUKLEOTIDE GEGEN TENASCIN ZUR BEHANDLUNG VON VITILIGO**(57) Abstract**

The invention relates to specific, optionally modified oligonucleotides with a length of up to 18 nucleotides. Said oligonucleotides correspond to segments of tenascin-coding sequences or can bind to these sequences. The invention also relates to the production and use of the oligonucleotides, for example for the specific inhibition of the expression of tenascin and for producing medicaments used to treat vitiligo.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechen bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidschan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, vorzugsweise einer Länge von 7-15 Nukleotiden, die Abschnitte Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden und die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Unter Vitiligo wird ein erworbenes Fehlen von Melanozyten verstanden, wodurch hypopigmentierte Hautbereiche entstehen, die in der Regel scharf begrenzt und häufig symmetrisch angeordnet sind, einen oder zwei Flecke bilden oder fast die ganze Haut erfassen. Das Haar in hypopigmentierten Bezirken ist normalerweise weiß und erscheint auch im Wood-Licht weiß. Die betroffenen Hautstellen sind anfällig gegen Sonnenbrand. Die Ursache der Erkrankung ist unbekannt. Obwohl die Vitiligo als eine im Laufe des Lebens erworbene Krankheit gilt, findet sich gelegentlich eine familiäre Häufung (autosomal-dominant, mit inkompletter Penetranz und variabler Ausprägung). Sie kann auch einem ungewöhnlichen physischen Trauma, insbesondere einer Schädelverletzung, folgen. Die Assoziation von Vitiligo mit einem Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie oder Schilddrüsendysfunktion wie auch das gehäufte Vorkommen von Antikörpern gegen Thyreoglobulin, Zellen der Nebenniere und Belegzellen des Magens im Serum haben dazu geführt, eine immunologische oder neurochemische Ursache zu vermuten. Antikörper gegen Melanin wurden bei einigen Patienten gefunden.

Alle verfügbaren Therapiemethoden führen nur bei einem Teil der Patienten zu befriedigenden Therapieerfolgen (F. Wach et al., H+G 71 (1996) 206). Zu den vorhandenen Therapien (S. P. W. Kumarasinghe, Ceylon Medical Journal 40 (1995) 94) gehören Photochemotherapien (PUVA), beispielsweise mit Methoxypsoralen, Phenylalanin, oder Khellin, die Transplantation von kultivierten

Melanocyten, "epidermal grafting", und die Behandlung mit Steroiden oder Plazenta-Extrakten. Kürzlich wurde über die Behandlung mit Pseudokatalase berichtet (Schallreuter et al., Dermatology 190 (1995) 223). Kleine Herde können auch mit kosmetischer Schminke oder Gerblösungen abgedeckt werden.

Poole et al. (British Journal of Dermatol. 137 (1997) 171) konnten zeigen, daß die Vitiligo befallene Haut im Vergleich zu normaler Haut einen hohen Gehalt an Tenascin aufweist. Der hohe Tenascin-Gehalt kann zum Verlust der Pigmentierung beitragen und die Repigmentierung verhindern. Tenascin (Crossin; J. Cell. Biol. 61 (1996) 592) ist ein extrazelluläres Matrix Glykoprotein, das aus sechs identischen Untereinheiten besteht, welche am Amino-Terminus über Disulfid-Brücken verknüpft sind. Die Tenascin Untereinheiten weisen eine charakteristische Domänenstruktur auf: Auf eine Cystein-reiche Sequenz am aminoterminalen Ende folgen drei, jeweils aus sich wiederholenden Einheiten aufgebaute Sequenzabschnitte aus zum EGF homologen Einheiten, aus zum Fibronectin (Typ III) homologen Einheiten und aus zum Fibrinogen homologen Einheiten.

Es existieren mehrere Isoformen der Tenascin Untereinheiten (im folgenden als Tenascin Isoformen bezeichnet), die sich in der Anzahl der sich wiederholenden Einheiten, die zum Fibronectin Typ III homolog sind, unterscheiden. Diese Isoformen werden durch alternatives splicing der Tenascin pre-mRNA und anschließende Translation der verschiedenen Splicevarianten gebildet (A. Leprini et al., Perspectives on Developmental Neurobiology 2 (1994) 117-123). Eine cDNA von humanem Tenascin wurde von A. Siri et al. (Nucl. Acids Res. 19 (1991) 525-531) beschrieben (Sequenz in Tabelle 1). Diese cDNA ist unter der Zugangsnummer X56160 in Gen-Datenbanken gespeichert und kann unter dieser Nummer beispielsweise unter EMBL/Genbank/DDBJ/NBRF-PIR erhalten werden. Diese cDNA enthält einen Sequenzabschnitt, der für 12 sich wiederholende Einheiten, die zum Fibrinogen Typ III homolog sind, kodiert. Die cDNAs der anderen Isoformen humanen Tenascins sind in diesem Sequenzabschnitt verkürzt und kodieren für weniger als 12 dieser sich wiederholenden Einheiten.

Die Expression von Tenascin ist räumlich und zeitlich begrenzt und ihm wird eine Bedeutung während der Entwicklung eines Organismus sowie bei pathologischen Veränderungen zugeschrieben (Crossin, vide supra). Solche pathologischen Veränderungen sind beispielsweise Vitiligo, Tumore und Entzündungen.

Eine Möglichkeit zur Regulation der Genexpression bieten Antisense-Oligonukleotide (E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90, 543 (1990); S. Agrawal, TIBTECH 1996, 376). In WO 94/21664 (L. Denner et al.) werden Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin, die zur Inhibition der Proliferation der glatten Zellmuskulatur eingesetzt werden, beschrieben. Die dort beschriebenen Oligonukleotide haben eine Länge von mindestens 18 Nukleotiden.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, neue Oligonukleotide, die vorteilhafte Eigenschaften aufweisen und die zur vollständigen und/oder teilweisen Inhibition der Genexpression von Tenascin verwendet werden können, bereitzustellen.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Oligonukleotide, die ein Länge von bis zu 18 Nukleotiden aufweisen, die Expression von Tenascin effektiv beeinflussen können. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Oligonukleotide mit 7 - 17 Nukleotid-Einheiten, die gegebenenfalls modifiziert sind. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nukleotiden auf. Das Oligonukleotid entspricht Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen (d.h. das Oligonukleotid hat eine Sequenz, die zu dem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Sequenz komplementär ist) und das Oligonukleotid bindet spezifisch an diese Tenascin-kodierende Sequenz (Nukleinsäure), beispielsweise an das Tenascin-Gen und/oder Tenascin mRNA und/oder Tenascin cDNA, wobei die Tenascin-kodierende Sequenz vorzugsweise humanen Ursprungs ist (z.B. humanes Tenascin Gen, humane Tenascin mRNA, humane Tenascin cDNA). Der Abschnitt der Tenascin-

kodierenden Sequenz, dem das Oligonukleotid entspricht bzw. zu dem das Oligonukleotid komplementär ist, hat vorzugsweise eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nukleotid-Einheiten (dies gilt insbesondere für die Bestimmung der Länge eines modifizierten und/oder chimären Oligonukleotids bzw. von Oligonukleotid-Analoga).

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid eine Länge von 7 bis 15 Nukleotiden aufweist und gegebenenfalls modifiziert sein kann sowie die physiologisch verträglichen Salze des Oligonukleotids.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das gegen einen oder mehrere bestimmte Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz gerichtet ist, beispielsweise den Translationsstart, den 5'-nicht-translatierten Bereich, den kodierenden Bereich und/oder den 3'-nicht-kodierenden Bereich. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung kann das Oligonukleotid auch gegen einen oder mehrere Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz gerichtet sein, die z.B. für bestimmte Domänen des Tenascins kodiert, beispielsweise gegen die Cystein-reiche Domäne, gegen eine zum EGF homologe Domäne, gegen eine zum Fibronectin Typ III homologe Domäne und/oder gegen eine zum Fibrinogen homologe Domäne.

Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid an einen Bereich der Nukleinsäure binden kann, der

- a) einen Teil des 5'-nichtkodierenden Bereichs und/oder den Translationsstart oder
- b) den Translationsstart und/oder einen Teil des kodierenden Bereichs oder

- c) einen Teil des kodierenden Bereichs und/oder
einen Teil des 3'-nichtkodierenden Bereichs
umfaßt.

Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein Oligonukleotid, das einem Sequenzabschnitt der humanen cDNA gemäß SEQ ID NO. 1 (Tabelle 1) entspricht. Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Oligonukleotid, das einem Sequenzabschnitt der cDNA, die in Gendatenbanken unter der Zugangsnummer X56160 gespeichert ist, entspricht.

In speziellen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid beispielsweise eine der folgenden Sequenzen oder Teile derselben haben:

- SEQ ID NO. 2: 3'- GGTTTGGGTGGAGGTGG -5'
SEQ ID NO. 3: 3'- GGAGGTGGTACCCCCCGG -5'
SEQ ID NO. 4: 3'- GGTGGTACCCCCCGG -5'
SEQ ID NO. 5: 3'- GGAGGTGGTACCCC -5'
SEQ ID NO. 6: 3'- AGAAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ ID NO. 7: 3'- GGAGGTGGTACC -5'
SEQ ID NO. 8: 3'- GGAGCGATGGCTTCCA -5'
SEQ ID NO. 9: 3'- AAAGGAACGGGAGCG -5'
SEQ ID NO. 10: 3'- GGTCGGTTGGGTGG -5'
SEQ ID NO. 11: 3'- CTTACAGGTCCGTTGA -5'
SEQ ID NO. 12: 3'- GGCCGTGTTCGCTGT -5'
SEQ ID NO. 13: 3'- TCACCCCTCTTCTGG -5'
SEQ ID NO. 14: 3'- GGACACCGACACGG -5'
SEQ ID NO. 15: 3'- AACGGGAGCGATGG -5'
SEQ ID NO. 16: 3'- ATCTCGGGGTCGTC -5'
SEQ ID NO. 17: 3'- AAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ ID NO. 18: 3'- GGTGGTACCCC -5'
SEQ ID NO. 19: 3'- CCCGGTACTGA -5' und

SEQ ID NO. 20: 3'- CCACAGAAAGAAC -5'.

Die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entsprechen Abschnitten der Tenascin-kodierenden cDNA, wie sie in Tabelle 1 dargestellt ist. Ein Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, ist komplementär zu einem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Nukleinsäure, z.B. einer humanen Tenascin cDNA und kann an diese Nukleinsäure binden. Sequenzen SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 5, SEQ ID NO. 7 und SEQ ID NO. 18 sind Beispiele für Oligonukleotide, die eine Sequenz aufweisen, die gegen den Translationsstart der Tenascin-kodierenden Sequenzen gerichtet ist.

Gegenstand der Erfindung sind auch Derivate eines Oligonukleotids, beispielsweise dessen Salze, insbesondere dessen physiologisch verträglichen Salze. Unter physiologisch verträglichen Salzen werden in Wasser leicht lösliche, lösliche und wenig lösliche Verbindungen, beispielsweise gemäß der Definition im "Deutschen Arzneibuch" (9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart), Seite 19, verstanden. Eine spezielle Ausführungsform der Erfindung betrifft das Natriumsalz des erfindungsgemäßen Oligonukleotids. Derivate sind auch modifizierte Oligonukleotide.

Ein Oligonukleotid kann beispielsweise vollständig oder teilweise aus den natürlichen Nukleotiden Adenosinphosphat, Guanosinphosphat, Inosinphosphat, Cytidinphosphat, Uridinphosphat und Thymidinphosphat aufgebaut sein. Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das aus den natürlichen Nukleosiden Adenosin, Guanosin, Inosin, Cytidin, Uridin und Thymidin aufgebaut ist und in welchem die Nukleoside über Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücken („Phosphorsäurediester-Brücken“) miteinander verknüpft sind.

In anderen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid gegebenenfalls ein oder mehrere Modifikationen, beispielsweise chemische Modifikationen, enthalten. Ein Oligonukleotid kann mehrere gleiche und/oder

verschiedene Modifikationen aufweisen. Modifikationen können an bestimmten Nukleosid Positionen (Nukleobase und/oder β -D-2'-Deoxyribose Einheit) und/oder bestimmten Internukleosid-Brücken lokalisiert sein.

Beispiele für chemische Modifikationen sind dem Fachmann bekannt und beispielsweise in E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90 (1990) 543 und "Protocols for Oligonukleotides and Analogs" Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques, S. Agrawal, Ed, Humana Press, Totowa, USA 1993 , S. T. Crooke, F. Bennet, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36 (1996) 107-129 und J. Hunziber and C. Leumann (1995) Mod. Synt. Methods, 7, 331-417 beschrieben.

Die chemische Modifikation eines Oligonukleotids kann beispielsweise

a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediester-Brücken (Internukleosid-Brücke) durch modifizierte Phosphobrücken bedeuten, wobei Phosphorothioat-, Phoshorodithioat-, NR¹R^{1'}Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-(C₁-C₂₁)-O-Alkylester, Phosphat-[(C₆-C₁₂)Aryl-(C₁-C₂₁)-O-Alkyl]ester, (C₁-C₈)Alkylphosphonat- und/oder (C₆-C₁₂)-Arylphosphonat-Brücken Beispiele für modifizierte Phosphobrücken sind, wobei

R¹ und R^{1'} unabhängig voneinander für Wasserstoff, (C₁-C₁₈)-Alkyl, (C₆-C₂₀)-Aryl, (C₆-C₁₄)-Aryl-(C₁-C₆)-alkyl, bevorzugt für Wasserstoff, (C₁-C₈)-Alkyl und/oder Methoxyethyl, besonders bevorzugt für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkyl und/oder Methoxyethyl stehen

oder

R¹ und R^{1'} zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann;

und/oder

b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'- Phosphorsäurediester Internukleosid Brücken („Phosphorsäurediesterbrücken“) durch "Dephospho"-Brücken (beschrieben beispielsweise in Uhlmann, E. und Peyman, A. in "Methods in Molecular Biology", Vol. 20, "Protocols for

Oligonukleotides and Analogs", S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa 1993, Chapter 16, 355ff) bedeuten, wobei Formacetal-, 3'-Thioformacetal-, Methylhydroxylamin-, Oxim-, Methylendimethylhydrazo-, Dimethylensulfon- und/oder Silylgruppen Beispiele für "Dephospho"-Brücken sind; und/oder

c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats (Ersatz von Zucker-Phosphat-Einheiten) durch andere Einheiten bedeuten, wobei die andere Einheit beispielsweise geeignet, ist ein "Morpholin-Derivat"-Oligomer (beispielweise in E. P. Stircak et al., Nucleic Acids Res. 17 (1989) 6129 beschrieben) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine Morphilino-Derivat Einheit) und/oder geeignet ist eine Polyamid Nucleinsäure ("PNA") (beispielsweise beschrieben in P. E. Nielsen et al., Bioconj. Chem. 5 (1994) 3 (EP 0 672 677)) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine PNA Einheit, beispielsweise 2-Amino-ethylglycin) und/oder geeignet ist, eine Phosphomonosäureester Nukleinsäure ("PHONA", „PMENA“) (beschrieben beispielsweise in Peyman et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 35 (1996) 2632-2638, EP 0 739 898) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine PHONA Einheit);

und/oder

d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyribose (β -D-2'-Desoxyribose-Einheiten) durch modifizierte Zuckereinheiten bedeuten, wobei α -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose, vorzugsweise 2'-O-Methylribose, 2'-O-(C₂-C₆)Alkenyl-Ribose, 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, β -D-Xylofuranose, α -Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- β -D-erythro-hexo-pyranose, carbocyclische Zuckeranaloga (beschrieben beispielsweise in Froehler, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 8320), offenkettige Zuckeranaloga (beschrieben beispielsweise in Vandendriessche et al., Tetrahedron 49 (1993) 7223) und Bicyclo-Zuckeranaloga (beschrieben beispielsweise in M. Tarkov et al., Helv. Chim. Acta 76 (1993) 481) Beispiele für modifizierte Zuckereinheiten sind;

und/oder

- e) die Modifikation beziehungsweise den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nukleosid-Basen durch modifizierte (Nukleosid-) Basen („Nukleobasen“) bedeuten, wobei 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-uracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin, 7-Deaza-7-substituierte Purine, 7-Deaza-8-substituierte Purine, 8-Azapurine, 2,4-Diamino-purine, 5-Bromcytosin, 5-Bromuracil, 5-Chlorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Fluoruracil, Hypoxanthin und Uracil
Beispiele für modifizierte Basen sind;
und/oder
- f) die Konjugation mit einem oder mehreren Molekülen (Oligonukleotid-Konjugate), die die Eigenschaft(en) des Oligonukleotids an spezielle Anforderungen anpassen bzw. die Eigenschaften (z.B. Zellpenetration, Nukleasestabilität, Affinität zur Tenascin-kodierenden Target-Sequenz, Pharmakokinetik) des Oligonukleotids (z.B. Antisense-Oligonukleotid, Tripelhelix-bildendes Oligonukleotid) günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter Bindung und/oder Quervernetzung angreifen kann bzw. können, bedeuten, wobei Poly-Lysin, Interkalatoren wie Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, fluoreszierende Verbindungen wie Fluorescein, Cross-Linker wie Psoralen, Azidoproflavin, lipophile Moleküle wie (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, Lipide wie 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide wie Cholesterin, Testosteron, Vitamine wie Vitamin E, Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiester und -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl Beispiele für Moleküle sind, die an ein Oligonukleotid konjugiert werden können, wobei solche Moleküle am 5'- und/oder am 3'-Ende und/oder innerhalb der Sequenz, z.B. über eine Nukleobase an das Oligonukleotid konjugiert sein können;
und/oder
- g) die Konjugation an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylylat oder ein Derivat desselben bedeutet, wobei ein 2'5'-verbundenes Triadenylylat, ein 2'5'-verbundenes Tetraadenylylat, ein 2'5'-verbundenes Pentaadenylylat u.s.w. Beispiele für 2'5'-

verbundene Oligoadenylate sind und Cordycepin (2'5'-verbundenes 3'-Deoxyadenylat) ein Beispiel für ein Derivat eines 2'5'-verbundenen Oligoadenylates ist, wobei die Konjugation vorzugsweise über einen Linker erfolgt, wobei das 5'-Ende des 2'5'-verbundenen Oligoadenylates vorzugsweise eine Phosphat-, Diphosphat- oder Triphosphatgruppe sein kann, wobei der Linker beispielsweise ein Oligoethylenglykole sein kann, wobei Triethylenglykol, Tetraethylenglykol und Hexaethylenglykol Beispiele für Oligoethylenglykol Linker sind; und/oder

h) die Einführung einer 3'-3'- und/oder 5'-5'-Inversion am 3' und/oder am 5'-Ende des Oligonukleotids bedeuten, wobei diese Art der chemischen Modifikation dem Fachmann bekannt und beispielsweise in M. Koga et al., J. Org. Chem. 56 (1991) 3757 beschrieben ist.

In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus

- a) dem vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat- und/oder (C₁-C₆)Alkyiphosphonat-Brücken,
- b) dem vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats durch PNA-Einheiten und/oder PHONA-Einheiten,
- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β-D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose,
- d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-uracil und/oder 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-cytosin,
- e) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend lipophile Moleküle, z.B. (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, Lipide, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide, z.B. Cholesterin und/oder Testosteron, Vitamine, z.B. Vitamin E, Poly- bzw. Oligo-ethylengylcol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiestern und -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl und

- f) ein oder mehreren 3'-3'- Inversionen am 3'-Ende des Oligonucleotids,
- In einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend
- a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken (Phosphodiester Brücken) durch Phosphorothioat-Brücken,
 - b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose,
 - c) die Konjugation mit lipophilen Molekülen, z.B. (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, mit Lipiden, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl.

Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotid-Konjugats sind dem Fachmann bekannt und z.B. in Uhlmann, E. & Peyman, A., Chem. Rev. 90 (1990) 543 und/oder M. Manoharan in "Antisense Research and Applications", Crooke and Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, 1993, Chapter 17, S.303ff. und/oder EP-A 0 552 766 beschrieben.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das eine oder mehrere Modifikationen aufweisen kann und das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 aufweist bzw. das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entspricht bzw. das den entsprechenden Sequenz-Abschnitten einer Tenascin-kodierenden Sequenz entspricht und an diesen Abschnitt der Tenascin-kodierenden Sequenz binden kann.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird Oligonukleotid bereitgestellt, in dessen Sequenz jedes Nukleotid (Base und/oder Zucker und/oder Internukleosid Brücke) modifiziert ist. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist beispielsweise das Oligonukleotid vollständig aus Phosphorothioaten

aufgebaut (durchgängig modifiziertes Phosphothioat, alle Internukleosid Brücken modifiziert). In einer weiteren speziellen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 entspricht, wobei aber die Phosphodiester Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden (d.h. die Internukleosid-Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden) vollständig durch Phosphothioat Brücken (d.h. Phosphothioatgruppen zwischen den Nukleosiden) ersetzt sind.

In einer weiteren besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, indem nur ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat Brücken ersetzt ist. Insbesondere beinhaltet die Erfindung Oligonukleotide die nur minimal (bzw. partiell) modifiziert sind. Das Prinzip der minimal modifizierten Oligonukleotide ist beschrieben in A. Peyman, E. Uhlmann, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 377 (1996) 67-70. Dabei werden 1-5, vorzugsweise 1-3 endständige Nukleotid-Einheiten (bzw. vorzugsweise die entsprechenden Internukleosid-Brücken) am 5'- und/oder am 3'-Ende und ggf. zusätzlich ausgewählte interne Pyrimidin-Positionen bzw. vorzugsweise die entsprechenden Internukleosid Brücken, die am 3'- und/oder 5'-Ende des entsprechenden Pyrimidin Nukleosids lokalisierte sind, modifiziert bzw. ersetzt, wobei vorzugsweise Internukleosid Brücken durch Phosphorothioat Brücken ersetzt werden. Auf diese Weise minimal modifizierte Oligonukleotide weisen besonders vorteilhafte Eigenschaften auf, beispielsweise zeigen sie besondere Nukleaseestabilität bei minimaler Modifikation.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, bei dem ausgewählte Internukleosid Brücken durch modifizierte Internukleosid Brücken ersetzt wird, vorzugsweise durch Phosphorothioat Brücken.

Gegenstand der Erfindung ist ein Oligonukleotid bei dem entweder

- a) nur bestimmte Phosphodiester Internukleosid-Brücken oder
- b) alle Phosphodiester Internukleosid-Brücken

modifiziert sind.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein bei dem 1 - 5 endständige Internukleosid-Brücken am 5'-und/oder am 3'-Ende des Oligonukleotids modifiziert sind. Gegenstand der Erfindung ist auch ein Oligonukleotid, bei dem die am 3'- und/oder 5'-Ende von nicht endständigen Nukleosiden, die eine Pyrimidin Base enthalten (interne Pyrimidin Nukleoside), lokalisierten Internukleosid-Brücken modifiziert sind.

Spezielle Ausführungsformen der Erfindung beinhalten ein minimal modifiziertes Oligonukleotid, das ist eine der Sequenzen, ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39, aufweist, wobei

- SEQ ID NO. 21: 3'- GsGsTsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 22: 3'- GsGsAsGGTsGGTsACsCCsCCsGsG -5',
- SEQ ID NO. 23: 3'- GsGsTGGTsACsCsCCsCsGsG -5',
- SEQ ID NO. 24: 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5',
- SEQ ID NO. 25: 3'- AsGsAAAGAAsCsGAAAGGsAsA -5',
- SEQ ID NO. 26: 3'- GsGsAGGTsGGTsAsCsC -5',
- SEQ ID NO. 27: 3'- GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA -5',
- SEQ ID NO. 28: 3'- AsAsAGGAACsGGGAGGsCsG -5',
- SEQ ID NO. 29: 3'- GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 30: 3'- CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA -5',
- SEQ ID NO. 31: 3'- GsGsCsCGsTGTsTCGCsTsGsT -5',
- SEQ ID NO. 32: 3'- TsCsACsCCsCTsCsTTsTsCsTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 33: 3'- GsGsAsCACsCGACsACsGsG -5',
- SEQ ID NO. 34: 3'- AsAsCsGGGAGCGATsGsG -5',
- SEQ ID NO. 35: 3'- AsTsCsTCGGGGTsCsGsTsC -5',
- SEQ ID NO. 36: 3'- AsAsAGAACsGAAAGGsAsA -5',
- SEQ ID NO. 37: 3'- GsGsTGGTsACsCsCsC -5',
- SEQ ID NO. 38: 3'- CsCsCsGGTsACsTsGsA -5',

SEQ ID NO. 39: 3'- CsCsAsCAGAAAGsAsAsC -5' ist und

wobei "s" die Position einer modifizierten Internukleosid-Brücke bzw. Dephosphobrücke angibt, wobei „s“ vorzugsweise die Position einer Phosphorothioat Brücke angibt .

Die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 entsprechen den Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20, d.h. sie können an die gleichen Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz binden, wobei allerdings im Gegensatz den SEQ ID NO. 2-20 ein Teil der Phosphodiester Brücken durch modifizierte Phosphodiester-Brücken bzw. Dephosphobücken, vorzugsweise durch Phosphothioat-Brücken (in der Sequenz durch ein "s" gekennzeichnet) ersetzt ist.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft chimäre Oligonukleotide. Ein chimäres Oligonukleotid ist aus mindestens zwei verschiedenen Sequenzabschnitten aufgebaut, beispielsweise aus einem DNA-Abschnitt und einem modifizierten Abschnitt, z.B. einem PNA-Abschnitt und/oder einem PHONA-Abschnitt. Diese unterschiedlichen Abschnitte verleihen dem gesamten Oligonukleotid besondere Eigenschaften.

Eine besondere Form chimärer Oligonukleotide ist beispielsweise in Matteucci und Wagner, Nature 384 SUPP (1996) 20-22 beschrieben. Ein chimäres Oligonukleotid kann z.B.

1. eine sogenannte "Core Sequenz", die aus etwa sieben Nukleotiden besteht und die die RNase H aktivieren kann sowie
2. eine oder mehrere flankierende Sequenzen, welche die Affinität, Spezifität und/oder Nuklease-Stabilität des Oligonukleotids erhöhen, enthalten.

Beispielsweise kann die "Core Sequenz" an bestimmten Positionen modifizierte Internukleosid Brücken aufweisen, beispielsweise kann die „Core Sequenz“ Phosphorothioat und/oder Phosphodiester Brücken enthalten. Als flankierende Sequenzen eignen sich beispielsweise Sequenzen, bei denen das Zuckerphosphat Rückgrat (Ersatz einer oder mehrerer Zuckerphosphat Einheiten) und/oder β -D-2'

Deoxyriboseeinheiten ersetzt sind. Als flankierende Sequenzen eignen sich beispielsweise PNAs und/oder 2'-O-Alkyl-Derivate wie etwa 2'-O-Methyl- und/oder 2'-O-Propyl- und/oder 2'-Methoxyethoxy-Derivate.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein chimäres Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 40 - SEQ ID NO. 58 aufweist, wobei

- x unabhängig voneinander für eine unmodifizierte oder eine modifizierte Phosphodiester Internukleosid Brücke oder eine Dephosphobrücke, vorzugsweise für Phosphorothioat und/oder Phosphordiester steht

und

- y unabhängig voneinander für den Ersatz einer Zuckerphosphat Einheit oder einer β -D-2'-Deoxyriboseeinheit, vorzugsweise für 2'-O-Methyl-, 2'-O-Propyl- und/oder 2'-Methoxyethoxyribose oder einen PNA-Baustein steht,

wobei

- SEQ ID NO. 40: 3'- GyGyTyTyGxGxTxGxGxAxGyGyTyGyG -5',
- SEQ ID NO. 41: 3'- GyGyAyGyGyTxGxGxTxAxCxGxCyCyGyG -5',
- SEQ ID NO. 42: 3'- GyGyTxGxGxTxAxCxGxCyCyGyG -5',
- SEQ ID NO. 43: 3'- GyGyAyGyGxTxGxGxTxAxCyCyC -5',
- SEQ ID NO. 44: 3'- AyGyAyAxAxGxAxAxCxGxAxAxAyGyGyAyA -5',
- SEQ ID NO. 45: 3'- GyGyAxGxGxTxGxGxTxAyCyC -5',
- SEQ ID NO. 46: 3'- GyGyAxGxCxGxAxTxGyGyCyTyCyCyA -5',
- SEQ ID NO. 47: 3'- AyAyAyGxAxAxCxGxAyGyGyCyG -5',
- SEQ ID NO. 48: 3'- GyGyTyCxGxGxTxTxTxGxGyGyTyGyG -5',
- SEQ ID NO. 49: 3'- CyTyTyAxCxAxGxAxGxTxCxGxCyTyTyGyA -5',
- SEQ ID NO. 50: 3'- GyGyCyCxGxTxGxTxTxCxGyCyTyGyT -5',
- SEQ ID NO. 51: 3'- TyCyAyCxCxGxAxTxTxTyCyTyGyG -5',
- SEQ ID NO. 52: 3'- GyGyAyCxAxCxGxAxGxAyCyGyG -5',
- SEQ ID NO. 53: 3'- AyAyCyGxAxGxAxGxCxGxAyTyGyG -5',
- SEQ ID NO. 54: 3'- AyTyCyTxCxGxGxAxGxTxCxGyTyC -5',
- SEQ ID NO. 55: 3'- AyAyAyGxAxAxCxGxAxAxAxGyGyAyA -5',
- SEQ ID NO. 56: 3'- GyGyTxGxGxTxAxCxGyCyC -5',

SEQ ID NO. 57: 3'- CyCxCxGxGxTxAxCyTyGyA -5',

SEQ ID NO. 58: 3'- CyCyAxCxAxGxAxAxGyAyAyC -5' ist.

Die Sequenzen SEQ ID NO. 40 - SEQ ID NO. 58 entsprechen den oben genannten Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20, d.h. sie binden an die entsprechenden Sequenzabschnitte einer Tenascin-kodierenden Sequenz, wobei allerdings die genannten Modifikationen enthalten sind.

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung der Oligonukleotide. Die beschriebenen Oligonukleotide können mit Hilfe verschiedener bekannter, chemischer Verfahren, z.B. unter Anwendung der Standard Phosphoramidit-Chemie unter Verwendung von Jod bzw. TED (Tetraethylthiuramdisulfid) als Oxidationsmittel, hergestellt werden. Dieses Verfahren ist z.B. in Eckstein, F. (1991) "Oligonukleotides and Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford beschrieben. Die Oligonukleotide können auch durch Verfahren hergestellt werden, die gegebenenfalls einen oder mehrere enzymatische Schritte enthalten.

Die Erfindung betrifft die Verwendung der Oligonukleotide. Die Oligonukleotide können zur Hybridisierung bzw. Bindung an Tenascin-kodierende (einzelsträngige und/oder doppelsträngige) Nukleinsäuren, beispielsweise DNA (z.B. Gene, cDNA) und/oder RNA (z.B. pre-mRNA, mRNA) verwendet werden. Insbesondere betrifft dies die Verwendung der Oligonukleotide zur Hybridisierung mit bzw. Bindung an Nukleinsäuren, die die Sequenz SEQ ID NO. 1 gemäß Tabelle 1 aufweisen bzw. mit Nukleinsäuren, die Teile dieser Sequenz aufweisen (beispielsweise Sequenzen, die für Tenascin Isoformen kodieren) bzw. mit Nukleinsäuren, deren Sequenz geringfügig von diesen Sequenzen abweicht (die z.B. eine oder mehrere Punktmutationen aufweisen).

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide zur Modulation sowie zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Expression von Tenascin bzw. verschiedener Tenascin Isoformen bzw. von Mutanten derselben, beispielsweise zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Transkription und/oder der Translation.

Die Erfindung betrifft beispielsweise die Verwendung der Oligonukleotide als Antisense Oligonukleotide. Darüber hinaus können die Oligonukleotide als Hilfsmittel in der Molekularbiologie verwendet werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide als Arzneimittel und/oder Diagnostikum bzw. die Verwendung der Oligonukleotide zur Herstellung von Arzneimitteln und/oder Diagnostika. Insbesondere können die Oligonukleotide in Arzneimitteln, die zur Prävention und/oder Behandlung von Krankheiten, die mit der Expression bzw. einer Überexpression von Tenascin einhergehen, eingesetzt werden. Da die Expression von Tenascin normalerweise, d.h. z.B. beim gesunden Menschen räumlich und zeitlich begrenzt ist, kann ein Abweichen von dieser normalen räumlichen und zeitlichen Expression, als Überexpression angesehen werden. Weiterhin können die Oligonukleotide für in Diagnostischen Verfahren eingesetzt werden. Solche Diagnostischen Verfahren können z.B. zur Diagnose bzw. Früherkennung von Krankheiten eingesetzt, die mit einer abnormalen Expression (z.B. Überexpression) von Tenascin einhergehen werden.

Die Erfindung betrifft auch einen Testkit, der ein oder mehrere erfindungsgemäße Oligonukleotide und gegebenenfalls weitere Komponenten enthält. Solch ein Testkit kann beispielsweise in der Diagnostik und zur Vorsorge, beispielsweise von Hautkrebskrankungen, eingesetzt werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung von Krankheiten, bei denen Tenascin bzw. eine Überexpression von Tenascin ursächlich bzw. beteiligt ist.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, bei denen eine Fehlsteuerung bzw. Störung der Einwanderung bzw. des Vorhandenseins bzw. der Einlagerung von Melanocyten in Epithelzellschichten, beispielsweise in Epithelzellschicht der Epidermis, der Aderhaut des Auges oder der Substantia nigra, zugrunde liegt bzw. beteiligt ist und

von Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie und/oder Schilddrüsendysfunktionen.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten zur Behandlung und/oder Prävention von Vitiligo und anderen Depigmentierungs-Erkrankheiten bzw. Depigmentierungsstörungen (z.B. der Haut, Haare, Augen) beispielsweise Albinismus und/oder zur Behandlung von Psoriasis und/oder zur Behandlung von Krebs, z.B. zur Inhibitoren von Tumorwachstum und Tumormetastasierung, beispielsweise bei Melanomen und/oder zur Behandlung von Entzündungen, insbesondere als Entzündungshemmer und/oder zur Behandlung und/oder Prophylaxe cardiovaskulärer Erkrankungen, beispielsweise der Restenose.

Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können. Die Erfindung betrifft darüber hinaus ganz allgemein (d.h. auch Oligonukleotide mit einer Länge von größer oder gleich 18 Nukleotiden) die Verwendung von Oligonukleotiden zur Behandlung von Vitiligo bzw. die Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung zur Behandlung von Vitiligo in Kombination mit bekannten therapeutischen Verfahren, beispielsweise in Kombination a) mit Photochemotherapie (PUVA), z.B. unter Verwendung von Methoxypsoralen, Phenylalanin und/oder Khellin und/oder b) mit der Transplantation von kultivierten Melanozyten ("epidermal grafting") und/oder c) mit einer Steroid-Behandlung und/oder d) mit einer Behandlung mit Plazenta-Extrakten und/oder e) mit einer Behandlung mit Pseudokatalase.

Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln (pharmazeutischen Zubereitungen). Zur Herstellung von Arzneimitteln werden ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide bzw. deren physiologisch verträgliche

Salze vermischt, wobei gegebenfalls weitere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe zugegeben werden können.

Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zubereitungen (Arzneimittel), die ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze sowie gegebenfalls pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten.

Das bzw. die Oligonukleotid(e) und/oder deren physiologisch verträgliche Salze können am Tier, bevorzugt am Säugetier, insbesondere am Menschen als Arzneimittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen Zubereitungen verabreicht werden. Die Arzneimittel können eine topische, perkutane, parenterale und/oder enterale Anwendung gestatten. Die jeweils bevorzugte Anwendungsform hängt von den jeweils speziellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo beispielsweise wird eine topische Anwendung, z.B. in Form von Salben, Lotionen oder Tinkturen, Emulsionen, Suspensionen bevorzugt. Ebenso hängt die Häufigkeit der Applikation von den individuellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo kann beispielsweise eine topische Komposition ein bis zweimal am Tag auf die depigmentierte Hautstelle aufgetragen werden.

Arzneimittel bzw. pharmazeutische Zubereitungen können als aktiven Bestandteil eine wirksame Dosis mindestens eines Oligonukleotids und/oder eine Mischung mehrerer Oligonukleotide und gegebenfalls zusätzliche, pharmazeutisch einwandfreie Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten. Eine pharmazeutische Zubereitung kann etwa 0,1 % (Gewichtsprozent) oder weniger bis etwa 90 % (Gewichtsprozent) oder mehr des therapeutisch wirksamen Oligonukleotids bzw. der pharmazeutisch wirksamen Oligonukleotide enthalten.

Die pharmazeutisch wirksame Dosis des jeweiligen Oligonukleotids bzw. eines Oligonukleotids, welches Bestandteil einer Mischung verschiedener Oligonukleotide

ist, kann innerhalb weiter Grenzen variieren und ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenheiten anzupassen.

Die Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen kann in an sich bekannter Weise, z. B. beschrieben in Remingtons Pharmaceutical Sciences (1985), Mack Publ. Co., Easton, PA. durchgeführt werden, wobei gegebenenfalls pharmazeutisch inerte anorganische und/oder organische Trägerstoffe verwendet werden können. Für die Herstellung von Pillen, Tabletten, Dragees und/oder Hartgelatinekapseln können z.B. Lactose, Maisstärke und/oder Derivate derselben, Talk, Stearinsäure und/oder deren Salze verwendet werden. Als Trägerstoffe für Weichgelatinekapseln und/oder Suppositorien können z.B. Fette, Wachse, halbfeste und/oder flüssige Polyole, natürliche und/oder gehärtete Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen und/oder Sirupen können z.B. Wasser, Saccharose, Invertzucker, Glukose und/oder Polyole verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen können z.B. Wasser, Alkohole, Glycerin, Polyole und/oder pflanzliche Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für Mikrokapseln, Implantate und/oder Rods können beispielsweise Mischpolymerisate, z.B. aus Giykoisäure und Milchsäure verwendet werden. Darüber hinaus sind Liposomenformulierungen, die dem Fachmann bekannt sind (N. Weiner, Drug Develop Ind Pharm 15 (1989) 1523; "Liposome Dermatics, Springer Verlag 1992), beispielsweise HVJ-Liposomen (Hayashi, Gene Therapy 3 (1996) 878) geeignet. Die dermale Applikation kann beispielsweise auch auch unter Zuhilfenahme ionophoretischer Methoden und/oder mit Hilfe der Elektroporation erfolgen. Darüber hinaus können Lipofektine und/oder andere (Nukleinsäure- bzw. DNA-)Carriersysteme, beispielsweise solche, die in der Gentherapie Anwendung finden, verwendet werden. Insbesondere sind Systeme geeignet, mit deren Hilfe Oligonukleotide mit großer Effizienz in eukaryotische Zellen bzw. die Kerne eukaryotischer Zellen eingebracht werden können.

Eine pharmazeutische Zubereitung kann neben den Wirk- und Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z.B. Füllstoffe, Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisierungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färbe-, Geschmacks- oder

Aromatisierungs-, Dickungs-, Verdünnungsmittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel und/oder Lösungsvermittler und/oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel und/oder Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze enthalten sowie ferner neben mindestens einem Oligonukleotid einen oder mehrere andere therapeutisch wirksame Stoffe.

Beispiele

Beispiel 1: Oligonukleotidsynthese

Das Oligonukleotid wurde auf einem automatischen DNA Synthesizer (Applied Biosystems Model 380B oder 394) unter Anwendung der Standard Phosphoramidit-Chemie und Oxidation mit Jod synthetisiert (F. Eckstein, Ed "Oligonucleotides and Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford, 1991). Zur Einführung von Phosphorthioat-Brücken in gemischten Phosphorothioaten und Phosphodiester Oligonukleotid wurde anstelle von Jod mit TETD (Tetraethylthiuramdisulfid) oxidiert (Applied Biosystems User Bulletin 65). Nach Abspaltung vom festen Träger (CPG oder Tentagel) und Entfernung der Schutzgruppen mit konz. NH₃ bei 55°C (18h) wurde das Oligonukleotid zunächst durch Butanol-Fällung (Sawadogo, Van Dyke, Nucl. Acids Res. 19 (1991) 674) gereinigt. Das Natriumsalz wurde dann durch Ausfällung aus einer 0.5 M NaCl Lösung mit 2.5 Volumenteilen Ethanol erhalten.

Das Oligonukleotid wurde mit Hilfe der

- a) Analytischen Gelelektrophorese (Gel: 20% Acrylamid, 8M Harnstoff; Laufpuffer: 454M Tris-borat Puffer, pH 7.0) und/oder
- b) HPLC-Analyse (Säulenmaterial: Waters GenPak FAX; Gradient: CH₃CN (400ml), H₂O (1.6l), NaH₂PO₄ (3.1g), NaCl (11.7g), pH6.8 (0.1M an NaCl) nach CH₃CN

(400ml), H₂O (1.6l), NaH₂PO₄ (3.1g), NaCl (175.3g), pH6.8 (1.5M an NaCl)) und/oder

c) Kapillargelelektrophorese (Beckmann Kapillare eCAP™, U100P Gel Column, 65 cm length, 100 mm I.D., window 15 cm from one end; Puffer: 140 µM Tris, 360mM Borsäure, 7M Harnstoff) und/oder

d) Elektrospray Massenspektroskopie

analysiert.

Die Analyse des Oligonukleotids ergab, daß dieses jeweils in einer Reinheit von größer 90% vorlag. Die Methoden zur Analyse von Oligonukleotiden sind z.B. in Schweiber und Engler "Analysis of oligonucleotides" (in "Antisense – from technology to therapy", a laboratory manual and textbook, Schlingensiepen et al. eds., Biol. Science, Vol. 6 (1997) p. 78-103) beschrieben.

Synthetisiertes Oligonukleotid:

ODN1 (Sequenz SEQ ID NO. 24): 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5'

Beispiel 2: Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung

50 mg ODN 1 aus Beispiel 1 können z.B. mit 1g Dermatop® (Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, Germany) Basiscreme eng vermischt und die Mischung bei Temperaturen < 10 °C aufbewahrt.

Beispiel 3:

Die Creme aus Beispiel 2 kann dann beispielsweise zweimal täglich (morgens und nachmittags bzw. abends) auf eine depigmentierte Hautstelle eines Vitiligo-Patienten aufgetragen werden.

Tabelle 1: Sequenz SEQ ID NO. 1:

Sequenz der humanen Tenascins cDNA nach A. Siri et al. Nucl. Acids Res. 19 (1991) 525-531.

| | |
|---|------|
| GAATTCGCTA GAGCCCTAGA GCCCCAGCAG CACCCAGCCA AACCCACCTC CACCATGGGG | 60 |
| GCCATGACTC AGCTGTTGGC AGGTGTCTTT CTTGCTTTCC TTGCCCTCGC TACCGAAGGT | 120 |
| GGGGTCCTCA AGAAAGTCAT CGGGCACAAAG CGACAGAGTG GGGTGAACGC CACCCCTGCCA | 180 |
| GAAGAGAACCC AGCCAGTGGT GTTTAACACAC GTTTACAACA TCAAGCTGCC AGTGGGATCC | 240 |
| CAGTGTTCGG TGGATCTGGA GTCAGCCAGT GGGGAGAAAG ACCTGGCACC GCCTTCAGAG | 300 |
| CCCAGCGAAA GCTTCAGGA GCACACAGTA GATGGGAAA ACCAGATTGT CTTCACACAT | 360 |
| CGCATCAACA TCCCCCGCCG GGCGCTGTGGC TGTGCCGCAG CCCCTGATGT TAAGGAGCTG | 420 |
| CTGAGCAGAC TGGAGGAGCT GGAGAACCTG GTGTCTTCCC TGAGGGAGCA ATGTACTGCA | 480 |
| GGAGCAGGCT GCTGTCTCCA GCCTGCCACA GGCGCTTGG ACACCAGGCC CTTCTGTAGC | 540 |
| GGTCGGGGCA ACTTCAGCAC TGAAGGATGT GGCTGTGTCT GCGAACCTGG CTGGAAAGGC | 600 |
| CCCAAATGCT CTGAGCCCCA ATGTCCAGGC AACTGTCACC TTCGAGGCCG GTGCATTGAT | 660 |
| GGGCAGTGCA TCTGTGACGA CGGCTTCACG GCGGAGGACT GCAGCCAGCT GGCTTGCCCC | 720 |
| AGCGACTGCA ATGACCAGGG CAAGTGCCTG AATGGAGTCT GCATCTGTTT CGAAGGCTAC | 780 |
| GCGGCTGACT GCAGCCGTGA AATCTGCCCA GTGCCCTGCA GTGAGGGAGCA CGGCACATGT | 840 |
| GTAGATGGCT TGTGTGTGTG CCACGATGGC TTTGCAGGCG ATGACTGCAA CAAGCCTCTG | 900 |
| TGTCTCAACA ATTGCTACAA CCGTGGACGA TGCCTGGAGA ATGAGTGCCT GTGTGATGAG | 960 |
| GGTTTCACGG GCGAAGACTG CAGTGAGCTC ATCTGCCCA ATGACTGCTT CGACCGGGGC | 1020 |
| CGCTGCATCA ATGGCACCTG CTACTGCGAA GAAGGCTTCA CAGGTGAAGA CTGCGGGAAA | 1080 |
| CCCACCTGCC CACATGCCTG CCACACCCAG GGCGGGTGTG AGGAGGGGCA GTGTGTATGT | 1140 |

| | |
|---|------|
| GATGAGGGCT TTGCCGGTGT GGACTGCAGC GAGAAGAGGT GTCCTGCTGA CTGTCACAAT | 1200 |
| CGTGGCCGCT GTGTAGACGG GCGGTGTGAG TGTGATGATG GTTTCACTGG AGCTGACTGT | 1260 |
| GGGGAGCTCA AGTGTCCCAA TGGCTGCAGT GGCCATGGCC GCTGTGTCAA TGGGCAGTGT | 1320 |
| GTGTGTGATG AGGGCTATAAC TGGGGAGGAC TGCAGCCAGC TACGGTGCCC CAATGACTGT | 1380 |
| CACAGTCGGG GCCGCTGTGT CGAGGGCAAA TGTGTATGTG AGCAAGGCTT CAAGGGCTAT | 1440 |
| GAATGCAGTG ACATGAGCTG CCCTTAATGAC TGTCAACCAGC ACGGCCGCTG TGTGAATGGC | 1500 |
| ATGTGTGTTT GTGATGACGG CTACACAGGG GAAGACTGCC GGGATCGCCA ATGCCCCAGG | 1560 |
| GAATGCAGCA ACAGGGGCCT CTGTGTGGAC GGACAGTGCG TCTGTGAGGA CGGCTTCACC | 1620 |
| GGCCCTGACT GTGCAGAACT CTCCTGTCCA AATGACTGCC ATGGCCAGGG TCGCTGTGTG | 1680 |
| AATGGGCAGT GCGTGTGCCA TGAAGGATTG ATGGCAAAG ACTGCAAGGA GCAAAGATGT | 1740 |
| CCCAGTGACT GTCATGGCCA GGGCCGCTGC GTGGACGGCC AGTGCATCTG CCACGAGGGC | 1800 |
| TTCACAGGCC TGGACTGTGG CCAGCACTCC TGCCCCAGTG ACTGCAACAA CTTAGGACAA | 1860 |
| TGCGTCTCGG GCCGCTGCAT CTGCAACGAG GGCTACAGCG GAGAAGACTG CTCAGAGGTG | 1920 |
| TCTCCTCCCA AAGACCTCGT TGTGACAGAA GTGACGGAAG AGACGGTCAA CCTGGCCTGG | 1980 |
| GACAATGAGA TGCGGGTCAC AGAGTACCTT GTCGTGTACA CGCCCACCCA CGAGGGTGGT | 2040 |
| CTGGAAATGC AGTTCCGTGT GCCTGGGAC CAGACGTCCA CCATCATCCG GGAGCTGGAG | 2100 |
| CCTGGTGTGG AGTACTTTAT CCGTGTATTT GCCATCCTGG AGAACAAAGAA GAGCATTCC | 2160 |
| GTCAGCGCCA GGGTGGCAC GTACTTACCT GCACCTGAAG GCCTGAAATT CAAGTCCATC | 2220 |
| AAGGAGACAT CTGTGGAAGT GGAGTGGAT CCTCTAGACA TTGCTTTGA AACCTGGAG | 2280 |
| ATCATCTTCC GGAATATGAA TAAAGAAGAT GAGGGAGAGA TCACCAAAAG CCTGAGGAGG | 2340 |
| CCAGAGACCT CTTACCGGCA AACTGGTCTA GCTCCTGGC AAGAGTATGA GATATCTCTG | 2400 |
| CACATAGTGA AAAACAATAC CGGGGGCCCT GGCTGAAGA GGGTGACCAAC CACACGCTTG | 2460 |

| | |
|--|------|
| GATGCCCCA GCCAGATCGA GGTGAAAGAT GTCACAGACA CCACTGCCTT GATCACCTGG | 2520 |
| TTCAAGCCCC TGGCTGAGAT CGATGGCATT GAGCTGACCT ACGGCATCAA AGACGTGCCA | 2580 |
| GGAGACCGTA CCACCATCGA TCTCACAGAG GACGAGAACCC AGTACTCCAT CGGGAACCTG | 2640 |
| AAGCCTGACA CTGAGTACGA GGTGTCCCTC ATCTCCGCA GAGGTGACAT GTCAAGCAAC | 2700 |
| CCAGCCAAAG AGACCTTCAC AACAGGCCTC GATGCTCCCA GGAATCTTCG ACGTGTTCC | 2760 |
| CAGACAGATA ACAGCATCAC CCTGGAATGG AGGAATGGCA AGGCAGCTAT TGACAGTTAC | 2820 |
| AGAATTAAGT ATGCCCAT CTCTGGAGGG GACCACGCTG AGGTTGATGT TCCAAAGAGC | 2880 |
| CAACAAGCCA CAACCAAAAC CACACTCACA GGTCTGAGGC CGGGAACTGA ATATGGGATT | 2940 |
| GGAGTTCTG CTGTGAAGGA AGACAAGGAG AGCAATCCAG CGACCATCAA CGCAGCCACA | 3000 |
| GAGTTGGACA CGCCCAAGGA CCTTCAGGTT TCTGAAACTG CAGAGACCAG CCTGACCTG | 3060 |
| CTCTGGAAGA CACCGTTGGC CAAATTGAC CGCTACCGCC TCAATTACAG TCTCCCCACA | 3120 |
| GGCCAGTGGG TGGGAGTGCA GCTTCCAAGA AACACCACCT CCTATGTCCT GAGAGGCCTG | 3180 |
| GAACCAGGAC AGGAGTACAA TGTCCCTCCTG ACAGCCGAGA AAGGCAGACA CAAGAGCAAG | 3240 |
| CCCGCACGTG TGAAGGCATC CACTGAACAA GCCCTGAGC TGGAAAACCT CACCGTGACT | 3300 |
| GAGGTTGGCT GGGATGGCCT CAGACTCAAC TGGACCGCGG CTGACCAGGC CTATGAGCAC | 3360 |
| TTTATCATTC AGGTGCAGGA GGCCAACAAG GTGGAGGCAG CTCGGAACCT CACCGTGCT | 3420 |
| GGCAGCCTTC GGGCTGTGGA CATAACGGGC CTCAAGGCTG CTACGCCTTA TACAGTCTCC | 3480 |
| ATCTATGGGG TGATCCAGGG CTATAGAACCA CCAGTGCTCT CTGCTGAGGC CTCCACAGGG | 3540 |
| GAAACTCCCA ATTTGGGAGA GGTCGTGGTG GCCGAGGTGG GCTGGGATGC CCTCAAACTC | 3600 |
| AACTGGACTG CTCCAGAAGG GGCCTATGAG TACTTTTCA TTCAGGTGCA GGAGGCTGAC | 3660 |
| ACAGTAGAGG CAGCCCAGAA CCTCACCGTC CCAGGAGGAC TGAGGTCCAC AGACCTGCCT | 3720 |
| GGGCTCAAAG CAGCCACTCA TTATACCATC ACCATCCGCG GGGTCACTCA GGACTTCAGC | 3780 |

| | |
|--|------|
| ACAACCCCTC TCTCTGTTGA AGTCTTGACA GAGGAGGTTC CAGATATGGG AAACCTCACA | 3840 |
| GTGACCGAGG TTAGCTGGGA TGCTCTCAGA CTGAACCTGGA CCACGCCAGA TGGAACCTAT | 3900 |
| GACCAGTTA CTATTCAGGT CCAGGAGGCT GACCAGGTGG AAGAGGCTCA CAATCTCACG | 3960 |
| GTTCCTGGCA GCCTGCGTTC CATGGAAATC CCAGGCCTCA GGGCTGGCAC TCCTTACACA | 4020 |
| GTCACCCCTGC ACGGCGAGGT CAGGGGCCAC AGCACTCGAC CCCTTGCTGT AGAGGTCGTC | 4080 |
| CAGTGGGACG TGCCGCTCCA GTCCCCGGTG TCGTGAGCTG GGGAAACGACA TCTCCAGCAG | 4140 |
| ACAGAGGATC TCCCACAGCT GGGAGATTAA GCCGTGTCTG AGGTTGGCTG GGATGGCCTC | 4200 |
| AGACTCAACT GGACCGCAGC TGACAATGCC TATGAGCACT TTGTCATTCA GGTGCAGGAG | 4260 |
| GTCAACAAAG TGGAGGCAGC CCAGAACCTC ACGTTGCCTG GCAGCCTCAG GGCTGTGGAC | 4320 |
| ATCCCGGGCC TCGAGGCTGC CACGCCTTAT AGAGTCTCCA TCTATGGGT GATCCGGGGC | 4380 |
| TATAGAACAC CAGTACTCTC TGCTGAGGCC TCCACAGCCA AAGAACCTGA AATTGGAAAC | 4440 |
| TTAAATGTTT CTGACATAAC TCCCGAGAGC TTCAATCTCT CCTGGATGGC TACCGATGGG | 4500 |
| ATCTTCGAGA CCTTTACCAT TGAAATTATT GATTCCAATA GGTTGCTGGA GACTGTGGAA | 4560 |
| TATAATATCT CTGGTGTGA ACGAACTGCC CATATCTCAG GGCTACCCCC TAGTACTGAT | 4620 |
| TTTATTGTCT ACCTCTCTGG ACTTGCTCCC AGCATCCGGA CCAAAACCAT CAGTGCCACA | 4680 |
| GCCACGACAG AGGCCCTGCC CCTTCTGGAA AACCTAACCA TTTCCGACAT TAATCCCTAC | 4740 |
| GGGTTCACAG TTTCTGGAT GGCATCGGAG AATGCCCTTG ACAGCTTCT AGTAACGGTG | 4800 |
| GTGGATTCTG GGAAGCTGCT GGACCCCCAG GAATTCACAC TTTCAGGAAC CCAGAGGAAG | 4860 |
| CTGGAGCTTA GAGGCCTCAT AACTGGCATT GGCTATGAGG TTATGGTCTC TGGCTTCACC | 4920 |
| CAAGGGCATC AAACCAAGCC CTTGAGGGCT GAGATTGTTA CAGAAGCCGA ACCGGAAGTT | 4980 |
| GACAACCTTC TGGTTTCAGA TGCCACCCCA GACGGTTTCC GTCTGTCCTG GACAGCTGAT | 5040 |
| GAAGGGGTCT TCGACAATTT TGTTCTAAA ATCAGAGATA CCAAAAAGCA GTCTGAGCCA | 5100 |

| | |
|--|------|
| CTGGAAATAA CCCTACTTGC CCCCCAACGT ACCAGGGACA TAACAGGTCT CAGAGAGGCT | 5160 |
| ACTGAATAACG AAATTGAAC TCTATGGAATA AGCAAAGGAA GGCGATCCCA GACAGTCAGT | 5220 |
| GCTATAGCAA CAACAGCCAT GGGCTCCCCA AAGGAAGTCA TTTTCTCAGA CATCACTGAA | 5280 |
| AATTGGGCTA CTGTCAGCTG GAGGGCACCC ACGGCCCAAG TGGAGAGCTT CCGGATTACC | 5340 |
| TATGTGCCCA TTACAGGAGG TACACCCCTCC ATGGTAAC TG TGAGCGAAC CAAGACTCAG | 5400 |
| ACCAGGCTGG TGAAACTCAT ACCTGGCGTG GAGTACCTTG TCAGCATCAT CGCCATGAAG | 5460 |
| GGCTTGAGG AAAGTGAACC TGTCTCAGGG TCATTACCCA CAGCTCTGGA TGGCCCATCT | 5520 |
| GGCCTGGTGA CAGCCAACAT CACTGACTCA GAAGCCTTGG CCAGGTGGCA GCCAGCCATT | 5580 |
| GCCACTGTGG ACAGTTATGT CATCTCCTAC ACAGGCGAGA AAGTGCCAGA AATTACACGC | 5640 |
| ACGGTGTCCG GGAACACAGT GGAGTATGCT CTGACCGACC TCGAGCCTGC CACGGAATAC | 5700 |
| ACACTGAGAA TCTTTGCAGA GAAAGGGCCC CAGAAGAGCT CAACCACAC TGCCAAGTTC | 5760 |
| ACAACAGACC TCGATTCTCC AAGAGACTTG ACTGCTACTG AGGTTCAGTC GGAAACTGCC | 5820 |
| CTCCTTACCT GGCGACCCCCC CCGGGCATCA GTCACCGGTT ACCTGCTGGT CTATGAATCA | 5880 |
| GTGGATGGCA CAGTCAGGA AGTCATTGTG GGTCCAGATA CCACCTCCTA CAGCCTGGCA | 5940 |
| GACCTGAGCC CATCCACCCA CTACACAGCC AAGATCCAGG CACTCAATGG GCCCCTGAGG | 6000 |
| AGCAATATGA TCCAGACCAT CTTCACCAACA ATTGGACTCC TGTACCCCTT CCCCAAGGAC | 6060 |
| TGCTCCAAG CAATGCTGAA TGGAGACACG ACCTCTGGCC TCTACACCAT TTATCTGAAT | 6120 |
| GGTGATAAGG CTCAGGCGCT GGAAGTCTTC TGTGACATGA CCTCTGATGG GGGTGGATGG | 6180 |
| ATTGTGTTCC TGAGACGCAA AACGGACGC GAGAACTTCT ACCAAAAGTG GAAGGCATAT | 6240 |
| GCTGCTGGAT TTGGGGACCG CAGAGAAGAA TTCTGGCTTG GGCTGGACAA CCTGAACAAA | 6300 |
| ATCACAGCCC AGGGGCAGTA CGAGCTCCGG GTGGACCTGC GGGACCATGG GGAGACAGCC | 6360 |
| TTTGCTGTCT ATGACAAGTT CAGCGTGGGA GATGCCAAGA CTCGCTACAA GCTGAAGGTG | 6420 |

| | |
|--|------|
| GAGGGGTACA GTGGGACAGC AGGTGACTCC ATGGCCTACC ACAATGGCAG ATCCTTCTCC | 6480 |
| ACCTTTGACA AGGACACAGA TTCAGCCATC ACCAACTGTG CTCTGTCTAC AAGGGGCTTC | 6540 |
| TGGTACAGGA ACTGTCACCG TGTCAACCTG ATGGGGAGAT ATGGGGACAA TAACCACAGT | 6600 |
| CAGGGCGTTA ACTGGTTCCA CTGGAAGGGC CACGAACACT CAATCCAGTT TGCTGAGATG | 6660 |
| AAGCTGAGAC CAAGCAACTT CAGAAATCTT GAAGGCAGGC GCAAACGGGC ATAAATTGGA | 6720 |
| GGGACCAC TG GGTGAGAGAG GAATAAGGCG GCCCAGAGCG AGGAAAGGAT TTTACCAAAG | 6780 |
| CATCAATACA ACCAGCCCAA CCATCGGTCC ACACCTGGGC ATTTGGTGAG AATCAAAGCT | 6840 |
| GACCATGGAT CCCTGGGCC AACGGCAACA GCATGGGCCT CACCTCCTCT GTGATTCTT | 6900 |
| TCTTTCGACC AAAGACATCA GTCTCCAACA TGTTTCTGTT TTGTTGTTG ATTCAAGCAA | 6960 |
| AATCTCCCAG TGACAACATC GCAATAGTTT TTTACTTCTC TTAGGTGGCT CTGGGATGGG | 7020 |
| AGAGGGGTAG GATGTACAGG GGTAGTTGT TTTAGAACCA GCCGTATTTT ACATGAAGCT | 7080 |
| GTATAATTAA TTGTCATTAT TTTTGTAGC AAAGATTAAA TGTGTCAATTG GAAGCCATCC | 7140 |
| CTTTTTTAC ATTCATACA ACAGAAACCA GAAAAGCAAT ACTGTTCCA TTTTAAGGAT | 7200 |
| ATGATTAATA TTATTAATAT AATAATGATG ATGATGATGA TGAAAACCAA GGATTTTCA | 7260 |
| AGAGATCTTT CTTTCCAAAA CATTCTGGA CAGTACCTGA TTGTATTTT TTTTTAAATA | 7320 |
| AAAGCACAAAG TACTTTGAA AAAAAA | 7346 |

Patentansprüche:

1. Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid eine Länge von 7 bis 15 Nukleotideinheiten aufweist und wobei das Oligonukleotid gegebenenfalls modifiziert sein kann sowie die physiologisch verträglichen Salze des Oligonukleotids.
2. Oligonukleotid nach Anspruch 1, wobei das Oligonukleotid an einen Bereich der Nukleinsäure bindet, der
 - a) einen Teil des 5'-nichtkodierenden Bereichs und/oder den Translationsstart oder
 - b) den Translationsstart und/oder einen Teil des kodierenden Bereichs oder
 - c) einen Teil des kodierenden Bereichs und/oder einen Teil des 3'-nichtkodierenden Bereichsumfaßt.
3. Oligonukleotid nach Anspruch 1, wobei das Oligonukleotid eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, wobei SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 folgende Bedeutung haben:

SEQ. ID NO. 2: 3'- GGTTTGGGTGGAGGTGG -5'
SEQ. ID NO. 3: 3'- GGAGGTGGTACCCCCCGG -5'
SEQ. ID NO. 4: 3'- GGTGGTACCCCCCGG -5'
SEQ. ID NO. 5: 3'- GGAGGTGGTACCCC -5'
SEQ. ID NO. 6: 3'- AGAAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ. ID NO. 7: 3'- GGAGGTGGTACC -5'
SEQ. ID NO. 8: 3'- GGAGCGATGGCTTCCA -5'
SEQ. ID NO. 9: 3'- AAAGGAACGGGAGCG -5'
SEQ. ID NO. 10: 3'- GGTCGGTTGGGTGG -5'

SEQ. ID NO. 11: 3'- CTTACAGGTCCGTTGA -5'
SEQ. ID NO. 12: 3'- GGCGTGTTCGCTGT -5'
SEQ. ID NO. 13: 3'- TCACCCCTCTTCTGG -5'
SEQ. ID NO. 14: 3'- GGACACCGACACGG -5'
SEQ. ID NO. 15: 3'- AACGGGAGCGATGG -5'
SEQ. ID NO. 16: 3'- ATCTCGGGTCGTC -5'
SEQ. ID NO. 17: 3'- AAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ. ID NO. 18: 3'- GGTGGTACCCC -5'
SEQ. ID NO. 19: 3'- CCCGGTACTGA -5'
SEQ. ID NO. 20: 3'- CCACAGAAAGAAC -5'

4. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, wobei das Oligonukleotid eine oder mehrere Modifikationen aufweist, die an bestimmten Nukleosid Positionen und/oder Internukleosid Brücken lokalisiert sind.
5. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, wobei die chemischen Modifikationen unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis h), wobei
 - a) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke lokalisiert ist durch eine modifizierte Phospho-Brücke,
 - b) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine "Dephospho"-Brücke,
 - c) den Ersatz einer Zuckerphosphat-Einheit durch eine andere Einheit,
 - d) den Ersatz einer β -D-2'-Desoxyribose-Einheit durch eine modifizierte Zuckereinheit,
 - e) die Modifikation beziehungsweise den Ersatz einer natürlichen Nukleosid-Base, durch eine modifizierte Nukleosid-Base,
 - f) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem Molekül, welches die Eigenschaften des Oligonukleotids an eine spezielle Anforderung anpaßt,

g) die Konjugation des Oligonukleotids an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylat oder ein Derivat davon, wobei die Konjugation des 2'5'-verbundenen Oligoadenylates oder eines Derivats davon gegebenenfalls über einen Linker erfolgt,
und

h) die Einführung einer 3'-3'-Inversion und/oder 5'-5'-Inversion am 3'-
beziehungsweise 5'-Ende des Oligonukleotids,
bedeuten.

6. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen enthält, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis h),

wobei

a) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine modifizierte Phosphobrücke bedeutet,

wobei eine modifizierte Phosphobrücke eine Phosphorothioat-, Phoshorodithioat-, NR¹R^{1'}Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-(C₁-C₂₁)-O-Alkylester-, Phosphat-[(C₆-C₁₂)Aryl-(C₁-C₂₁)-O-Alkyl]ester-, (C₁-C₈)Alkylphosphonat- oder (C₆-C₁₂)-Arylphosphonat-Brücke ist,
wobei

R¹ und R^{1'} unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Reihe enthaltend Wasserstoff, (C₁-C₁₈)-Alkyl, (C₆-C₂₀)-Aryl, (C₆-C₁₄)-Aryl-(C₁-C₈)-alkyl oder

R¹ und R^{1'} zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann,

b) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine "Dephospho"-Brücke bedeutet,

wobei eine "Dephospho-Brücken" eine Formacetal-, 3'-Thioformacetal-, Methylhydroxylamin-, Oxim-, Methylendimethylhydrazo-, Dimethylensulfon- oder Silyl-Brücke ist,

- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats (Ersatz von Zucker-Phosphat-Einheiten) durch andere Einheiten bedeutet,
wobei eine andere Einheit geeignet ist, ein "Morpholin-Derivat"-Oligomer, eine Polyamid Nukleinsäure ("PNA") oder eine Phosphomonosäureester Nukleinsäure aufzubauen ,
- c) den Ersatz einer β -D-2'-Desoxyribose-Einheit durch eine modifizierte Zuckereinheit bedeutet,
wobei eine modifizierte Zuckereinheit eine α -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose, 2'-O-(C₂-C₆)Alkenyl-Ribose, 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, β -D-Xylofuranose, a-Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- β -D-erythro-hexo-pyranose, ein carbozyklisches Zuckeranalogon, ein offenkettiges Zuckeranalogon oder ein Bicyclo-Zuckeranalogon ist,
- d) den Ersatz einer natürlichen Nukleosid-Base durch eine modifizierte Nukleosid-Base bedeutet,
wobei eine modifizierte Nukleosid-Base 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydouracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-uracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkinyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin, ein 7-Deaza-7-substituiertes Purin ,oder ein 7-Deaza-8-substituiertes Purin ist,
- e) die Konjugation mit einem Molekül bedeutet,
wobei das Molekül ein Poly-Lysin, Interkalator, fluoreszierendes Molekül, Cross-Linker, lipophiles Molekül, Lipid, Steroid, Vitamin, Polyethyenglykol, Oligoethyenglykol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiester oder -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Gruppe ist,
- f) die Konjugation an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylylat oder ein Derivat desselben bedeutet,
wobei ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylylat oder ein Derivat desselben ein 2'5'-verbundenes Triadenylylat, 2'5'-verbundenes Tetraadenylylat, 2'5'-

- verbundenes Pentaadenylat oder Cordycepin (2'5'-verbundenes 3'-Deoxyadenylat) ist,
wobei die Konjugation gegebenenfalls über einen Linker erfolgt und
wobei das 5'-Ende des 2'5'-verbundenen Oligoadenylyls gegebenenfalls eine Phosphat-, Diphosphat- oder Triphosphatgruppe enthält und
g) die Einführung einer 3'-3'- und/oder 5'-5'-Inversion am 3' und/oder am 5'-Ende des Oligonukleotids bedeutet.
7. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, wobei entweder
a) nur bestimmte Phosphodiester Internukleosid-Brücken oder
b) alle Phosphodiester Internukleosid-Brücken durch modifiziert sind.
8. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, wobei 1 - 5 endständige Internukleosid-Brücken am 5'-und/oder am 3'-Ende des Oligonukleotids modifiziert sind.
9. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, wobei die am 3'- und/oder 5'-Ende von nicht endständigen Nukleosiden, die eine Pyrimidin Base enthalten, lokalisierten Internukleosid-Brücken modifiziert sind.
10. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Oligonukleotid eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 folgende Bedeutung haben:

SEQ ID NO. 21: 3'- GsGsTsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG -5',
SEQ ID NO. 22: 3'- GsGsAsGGTsGGTsACsCCsCCsGsG -5',
SEQ ID NO. 23: 3'- GsGsTGGTsACsCsCCsCsGsG -5',
SEQ ID NO. 24: 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5',
SEQ ID NO. 25: 3'- AsGsAAAGAAsCsGAAAGGsAsA -5',

- SEQ ID NO. 26: 3'- GsGsAGGTsGGTsAsCsC -5',
SEQ ID NO. 27: 3'- GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA -5',
SEQ ID NO. 28: 3'- AsAsAGGAACsGGGAGGsCsG -5',
SEQ ID NO. 29: 3'- GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG -5',
SEQ ID NO. 30: 3'- CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA -5',
SEQ ID NO. 31: 3'- GsGsCsCGsTGTsTCGCsTsGsT -5',
SEQ ID NO. 32: 3'- TsCsACsCCsCTsCsTTsTsCsTsGsG -5',
SEQ ID NO. 33: 3'- GsGsAsCACsCGACsACsGsG -5',
SEQ ID NO. 34: 3'- AsAsCsGGGAGCGATsGsG -5',
SEQ ID NO. 35: 3'- AsTsCsTCGGGGTsCsGsTsC -5',
SEQ ID NO. 36: 3'- AsAsAGAACsGAAAGGsAsA -5',
SEQ ID NO. 37: 3'- GsGsTGGTsACsCsCsC -5',
SEQ ID NO. 38: 3'- CsCsCsGGTsACsTsGsA -5' und
SEQ ID NO. 39: 3'- CsCsAsCAGAAAGsAsAsC -5',

wobei "s" die Position einer modifizierten Internukleosid-Brücke angibt.

11. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, wobei das Oligonukleotid eine der Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 folgende Bedeutung haben

- SEQ ID NO. 40: 3'- GyGyTyTyTyGxGxGxTxGxGxAxGyGyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 41: 3'- GyGyAyGyGyTxGxGxTxAxCxCxCyCyGyG -5',
SEQ ID NO. 42: 3'- GyGyTxGxGxTxAxCxCxCxCyCyGyG -5',
SEQ ID NO. 43: 3'- GyGyAyGyGxTxGxGxTxAxCyCyC -5',
SEQ ID NO. 44: 3'- AyGyAyAxAxGxAxCxAxCxAyGyGyAyA -5',
SEQ ID NO. 45: 3'- GyGyAxGxGxTxGxGxTxAyCyC -5',
SEQ ID NO. 46: 3'- GyGyAxGxCxGxAxTxGyGyCyTyCyCyA -5',
SEQ ID NO. 47: 3'- AyAyAyGxAxAxCxAxCyGyGyAyGyCyG -5',
SEQ ID NO. 48: 3'- GyGyTyCxGxGxTxTxGxGyGyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 49: 3'- CyTyTyAxCxAxGxAxGxTxCxCxGyTyGyA -5',

SEQ ID NO. 50: 3'- GyGyCyCxGxTxGxTxCxGyCyTyGyT -5',
SEQ ID NO. 51: 3'- TyCyAyCxCxGxCxTxTyTyCyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 52: 3'- GyGyAyCxAxCxGxAxCyGyG -5',
SEQ ID NO. 53: 3'- AyAyCyGxGxGxAxCxGxAyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 54: 3'- AyTyCyTxCxGxGxAxCxGxAyTyC -5',
SEQ ID NO. 55: 3'- AyAyAyGxAxAxCxAxAxAyGyAyA -5',
SEQ ID NO. 56: 3'- GyGyTxGxGxAxCyCyC -5',
SEQ ID NO. 57: 3'- CyCxGxAxCxGxAxCyTyGyA -5' und
SEQ ID NO. 58: 3'- CyCyAxGxAxCxAxAyAyC -5',
wobei

"x" unabhängig voneinander für eine Phosphodiester Internukleosid-Brücke oder
eine modifizierte Internukleosid-Brücke steht und
"y" unabhängig voneinander für den Ersatz einer Zuckerphosphat Einheit oder
einer β -D-2'-Deoxyriboseeinheit steht, wobei die modifizierte β -D-2'-
Deoxyriboseeinheit am 3'-Ende von „y“ lokalisierte ist.

12. Oligonukleotid nach Anspruch 11, wobei „y“ für 2'-O-Methyl-, 2'-O-Propyl-,
2'-Methoxyethoxy-ribose oder eine PNA Einheit steht.
13. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 12 zur Inhibition der Expression von Tenascin.
14. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 12 als Werkzeug in der Molekularbiologie.
15. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 12 als Diagnostikum.
16. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 12 als Arzneimittel.

17. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Arzneimittels.
18. Arzneimittel enthaltend eines oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 sowie gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe.
19. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 18 in Kombination mit Photochemotherapie und/oder der Transplantation von kultivierten Melanocyten und/oder der Behandlung mit Steroiden und/oder der Behandlung mit Plazenta-Extrakten.
20. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, wobei eine wirksame Dosis eines oder mehrerer Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 mit einem oder mehreren pharmazeutischen Träger- und/oder Zusatzstoffen gemischt wird.
21. Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12, wobei das Oligonukleotid chemisch an einer Festphase synthetisiert wird.
22. Diagnostikum enthaltend ein oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12.
23. Testkit enthalten ein oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12.

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

- (A) NAME: Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH
- (B) STRASSE: -
- (C) ORT: Frankfurt
- (D) BUNDESLAND: -
- (E) LAND: Deutschland
- (F) POSTLEITZAHL: 65926
- (G) TELEFON: 069-305-7072
- (H) TELEFAX: 069-35-7175
- (I) TELEX: -

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin
zur Behandlung von Vitiligo

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 58

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 7346 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..7346

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

| | |
|---|------|
| GAATTTCGCTA GAGCCCTAGA GCCCCAGCAG CACCCAGCCA AACCCACCTC CACCATGGGG | 60 |
| GCCATGACTC AGCTGTTGGC AGGTGTCTTT CTTGCTTCC TTGCCCCTCGC TACCGAAGGT | 120 |
| GGGGTCCTCA AGAAAGTCAT CGGCACAAG CGACAGAGTG GGGTGAACGC CACCTGCCC | 180 |
| GAAGAGAACCC AGCCAGTGGT GTTAACCAC GTTTACACCA TCAAGCTGCC AGTGGGATCC | 240 |
| CAGTGTTCGG TGGATCTGGA GTCAGCCAGT GGGGAGAAAG ACCTGGCACC GCCTTCAGAG | 300 |
| CCCAGCGAAA GCTTTCAGGA GCACACAGTA GATGGGGAAA ACCAGATTGT CTTCACACAT | 360 |
| CGCATCAACA TCCCCCGCCG GGCTCTGTGGC TGTGCCGCAG CCCCTGATGT TAAGGAGCTG | 420 |
| CTGAGCAGAC TGGAGGAGCT GGAGAACCTG GTGTCTTCCC TGAGGGAGCA ATGTACTGCA | 480 |
| GGAGCAGGCT GCTGTCTCCA GCCTGCCACA GGCGCCTTGG ACACCAGGCC CTTCTGTAGC | 540 |
| GGTCCCCGCA ACTTCAGCAC TGAAGGATGT GGCTGTGTCT CGCAACCTGG CTGGAAAGGC | 600 |
| CCCAAATGCT CTGAGCCCGA ATGTCAGGC AACTGTCAAC TTCGAGGCCG GTGCATTGAT | 660 |
| GGGCAGTGCA TCTGTGACGA CGGCTTCACG GCGGAGGACT GCAGCCAGCT GGCTTGCCCC | 720 |
| AGCGACTGCA ATGACCAAGGG CAAGTGCCTG AATGGAGTCT GCATCTGTT CGAAGGCTAC | 780 |
| CGGGCTGACT GCAGCCGTGA AATCTGCCA GTGCCCTGCA GTGAGGGAGCA CGGCACATGT | 840 |
| GTAGATGGCT TGTGTGTGTG CCACGATGGC TTTGCAGCG ATGACTGCAA CAAGCCTCTG | 900 |
| TGTCTCAACA ATTGCTACAA CCGTGGACGA TGCCTGGAGA ATGAGTGCCT GTGTGATGAG | 960 |
| GGTTTCACGG GCGAAGACTG CAGTGAGCTC ATCTGCCCA ATGACTGCTT CGACCGGGGC | 1020 |
| CGCTGCATCA ATGGCACCTG CTACTGCGAA GAAGGCTTCAGGTGAAGA CTGGGGAAAA | 1080 |
| CCCACCTGCC CACATGCCCTG CCACACCCAG GGCGGGTGTG AGGAGGGGGCA GTGTGTATGT | 1140 |

| | | | | | | |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| GATGAGGGCT | TTGCCGGTGT | GGACTGCAGC | GAGAAGAGGT | GTCCTGCTGA | CTGTCACAAT | 1200 |
| CGTGGCCGCT | GTGTAGACGG | GCGGTGTGAG | TGTGATGATG | GTTCACTGG | AGCTGACTGT | 1260 |
| GGGGAGCTCA | AGTGTCCCAA | TGGCTGCAGT | GGCCATGCC | GCTGTGTCAA | TGGGCAGTGT | 1320 |
| GTGTGTGATG | AGGGCTATAAC | TGGGGAGGAC | TGCAGCCAGC | TACGGTGCCC | CAATGACTGT | 1380 |
| CACAGTCGGG | GCCGCTGTGT | CGAGGGCAAA | TGTGTATGTG | AGCAAGGCTT | CAAGGGCTAT | 1440 |
| GAUTGCAGTG | ACATGAGCTG | CCCTAATGAC | TGTCACCAGC | ACGGCCGCTG | TGTGAATGGC | 1500 |
| ATGTGTGTTT | GTGATGACGG | CTACACAGGG | GAAGACTGCC | GGGATCGCCA | ATGCCCCAGG | 1560 |
| GAUTGCAGCA | ACAGGGGCCT | CTGTGTGGAC | GGACAGTGC | TCTGTGAGGA | CGGCTTCACC | 1620 |
| GGCCCTGACT | GTGCAGAACT | CTCCTGTCCA | AATGACTGCC | ATGCCAGGG | TCGCTGTGTG | 1680 |
| AATGGGCAGT | GCGTGTGCCA | TGAAGGATT | ATGGGAAAG | ACTGCAAGGA | GCAAAGATGT | 1740 |
| CCCAGTGA | GTCAATGCCA | GGGCCGCTGC | GTGGACGCC | AGTGCATCTG | CCACGAGGGC | 1800 |
| TTCACAGGCC | TGGACTGTGG | CCAGCACTCC | TGCCCCAGTG | ACTGCAACAA | CTTAGGACAA | 1860 |
| TGCGTCTCGG | GCCGCTGCAT | CTGCAACGAG | GGCTACAGCG | GAGAAGACTG | CTCAGAGGTG | 1920 |
| TCTCCTCCCA | AAAGACCTCGT | TGTGACAGAA | GTGACGGAAG | AGACGGTCAA | CCTGGCCTGG | 1980 |
| GACAATGAGA | TGCGGGTCAC | AGAGTACCTT | GTGCGTACA | CGCCCACCCA | CGAGGGTGGT | 2040 |
| CTGGAAATGC | AGTTCCGTGT | GCCTGGGAC | CAGACGTCCA | CCATCATCCG | GGAGCTGGAG | 2100 |
| CCTGGTGTGG | AGTACTTTAT | CCGTGTATTT | GCCATCCTGG | AGAACAAAGAA | GAGCATTCT | 2160 |
| GTCAGGCCA | GGGTGGCCAC | GTACTTACCT | GCACCTGAAG | GCCTGAAATT | CAAGTCATC | 2220 |
| AAGGAGACAT | CTGTGGAAGT | GGAGTGGGAT | CCTCTAGACA | TTGCTTTGA | AACCTGGGAG | 2280 |
| ATCATCTTCC | GGAAATATGAA | TAAGAAAGAT | GAGGGAGAGA | TCACCAAAAG | CCTGAGGAGG | 2340 |
| CCAGAGACCT | CTTACCGGGCA | AACTGGTCTA | GCTCCTGGC | AAGAGTATGA | GATATCTCTG | 2400 |
| CACATAGTGA | AAAACAATAC | CCGGGGCCCT | GGCCTGAAGA | GGGTGACCCAC | CACACGTTG | 2460 |
| GATGCCCCA | GCCAGATCGA | GGTGAAGAT | GTCACAGACA | CCACTGCCTT | GATCACCTGG | 2520 |
| TTCAAGCCCC | TGGCTGAGAT | CGATGGCATT | GAGCTGACCT | ACGGCATCAA | AGACGTGCCA | 2580 |
| GGAGACCGTA | CCACCATCGA | TCTCACAGAG | GACGAGAAC | AGTACTCCAT | CGGGAACCTG | 2640 |
| AAGCCTGACA | CTGAGTACGA | GGTGTCCCTC | ATCTCCCGA | GAGGTGACAT | GTCAAGCAAC | 2700 |
| CCAGCCAAAG | AGACCTTCAC | AACAGGCCTC | GATGCTCCA | GGAATCTTCG | ACGTGTTCC | 2760 |
| CAGACAGATA | ACAGCATCAC | CCTGGAATGG | AGGAATGGCA | AGGAGCTAT | TGACAGTTAC | 2820 |
| AGAATTAAAGT | ATGCCCCCAT | CTCTGGAGGG | GACCACGCTG | AGGTGATGT | TCCAAAGAGC | 2880 |
| CAACAAAGCCA | CAACCAAAAC | CACACTCACA | GGTCTGAGGC | CGGGAACCTG | ATATGGGATT | 2940 |
| GGAGTTCTG | CTGTGAAGGA | AGACAAGGAG | AGCAATCCAG | CGACCATCAA | CGCAGCCACA | 3000 |
| GAGTTGGACA | CGCCCCAAGG | CCTTCAGGTT | TCTGAAACTG | CAGAGACCAG | CCTGACCCCTG | 3060 |
| CTCTGGAAAGA | CACCGTGGC | CAAATTGAC | CGCTACCGCC | TCAATTACAG | TCTCCCCACA | 3120 |
| GGCCAGTGGG | TGGGAGTGCA | GCTTCCAAGA | AAACACATT | CCTATGTCCT | GAGAGGCTG | 3180 |
| GAACCAAGGAC | AGGAGTACAA | TGTCCCTCTG | ACAGCGAGA | AAGGCAGACA | CAAGAGCAAG | 3240 |
| CCCGCACGTG | TGAAGGCATC | CACTGAACAA | GCCCCTGAGC | TGGAAAACCT | CACCGTGA | 3300 |
| GAGGTGGCT | GGGATGGGCT | CAGACTCAAC | TGGACCGCGG | CTGACCAGGC | CTATGAGCAC | 3360 |
| TTTATCATT | AGGTGCAGGA | GGCCAACAAG | GTGGAGGAG | CTCGGAACCT | CACCGTGCCT | 3420 |
| GGCAGCCTTC | GGGCTGTGGG | CATAACGGGC | CTCAAGGCTG | CTACGCCCTA | TACAGTCTCC | 3480 |
| ATCTATGGGG | TGATCCAGGG | CTATAGAACAA | CCAGTGCCT | CTGCTGAGGC | CTCCACAGGG | 3540 |
| GAAACTCCA | ATTGGGAGA | GGTCGTGGTG | GCCGAGGTGG | GCTGGGATGC | CCTCAAACTC | 3600 |
| AACTGGACTG | CTCCAGAAGG | GGCCTATGAG | TACTTTTCA | TTCAAGGTGCA | GGAGGCTGAC | 3660 |
| ACAGTAGAGG | CAGCCAGAA | CCTCACCGTC | CCAGGAGGAC | TGAGGTCCAC | AGACCTGCCT | 3720 |
| GGGCTCAAAG | CAGCCACTCA | TTATACCATC | ACCATCCCG | GGGTCACTCA | GGACTTCAGC | 3780 |
| ACAACCCCTC | TCTCTGTGA | AGTCTTGACA | GAGGAGGTC | CAGATATGGG | AAACCTCACA | 3840 |
| GTGACCGAGG | TTAGCTGGG | TGCTCTCAGA | CTGAACCTG | CCACGCCAGA | TGGAACCTAT | 3900 |
| GACCAGTTA | CTATTCAAGG | CCAGGAGGCT | GACCAGGTTG | AAGAGGCTCA | CAATCTCACG | 3960 |
| GTTCCCTGGCA | GCCTGCGTT | CATGAAATC | CCAGGCCCTA | GGGCTGGCAC | TCCTTACACA | 4020 |
| GTCACCCCTG | ACGGCGAGGT | CAGGGGCCAC | AGCACTCGAC | CCCTTGCTGT | AGAGGTGTC | 4080 |
| CAGTGGGACG | TGCCGCTCCA | GTCCCCGGTG | TCGTGAGCTG | GGGAACGACA | TCTCCAGCAG | 4140 |
| ACAGAGGATC | TCCCACAGCT | GGGAGATT | GCCGTGCTG | AGGGTGGCTG | GGATGCCCTC | 4200 |
| AGACTCAACT | GGACCGCAGC | TGACAATGCC | TATGAGCACT | TTGTCATTCA | GGTGCAGGAG | 4260 |
| GTCAACAAAG | TGGAGGCAGC | CCAGAACCTC | ACGTTGCGCTG | GCAGCCTCAG | GGCTGTGGAC | 4320 |
| ATCCCCGGCC | TCGAGGCTGC | CACGCCCTAT | AGAGTCTCCA | TCTATGGGGT | GATCCCCGGC | 4380 |
| TATAGAACAC | CAGTACTCTC | TGCTGAGGCC | TCCACAGCCA | AAGAACCTGA | AATTGGAAAC | 4440 |
| 'TTAAATGTTT | CTGACATAAC | TCCCAGAGAC | TTCAATCTCT | CCTGGATGGC | TACCGATGGG | 4500 |
| ATCTTCGAGA | CCTTACCAT | TGAAATTATT | GATTCCAATA | GGTTGCTGGA | GAUTGTGGAA | 4560 |
| TATAATATCT | CTGGTGCTGA | ACGAACCTGC | CATATCTCAG | GGCTACCCCTC | TAGTACTGAT | 4620 |
| TTTATTGTCT | ACCTCTCTGG | ACTTGCTCCC | AGCATCCGA | CCAAAACCAT | CAGTGCCACA | 4680 |
| GCCACGACAG | AGGCCCTGCC | CCTTCTGGAA | AACCTAACCA | TTTCCGACAT | TAATCCCTAC | 4740 |
| GGGTTCACAG | TTTCCCTGGAT | GGCATCGGAG | AATGCCTTTG | ACAGTTTCT | AGTAACGGTG | 4800 |
| GTGGATTCTG | GGAGGCTGCT | GGACCCCCAG | GAATTACAC | TTTCAGGAAC | CCAGAGGAAG | 4860 |
| CTGGAGCTTA | GAGGCCTCAT | AACTGGCATT | GGCTATGAGG | TTATGGTCTC | TGGCTTCACC | 4920 |

| | | | | | | |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| CAAGGGCATC | AAACCAAGCC | CTTGAGGGCT | GAGATTGTTA | CAGAAGCCGA | ACCGGAAGTT | 4980 |
| GACAACCTTC | TGGTTTCAGA | TGCCACCCCA | GACGGTTCC | GTCTGTCTG | GACAGCTGAT | 5040 |
| GAAGGGGTCT | TCGACAATTT | TGTTCTCAA | ATCAGAGATA | CCAAAAAGCA | GTCTGAGCCA | 5100 |
| CTGGAATAA | CCCTACTTGC | CCCCGAACGT | ACCAGGGACA | TAACAGGTCT | CAGAGAGGCT | 5160 |
| ACTGAATAcg | AAATTGAACT | CTATGGAATA | AGCAAAGGAA | GGCGATCCC | GACAGTCAGT | 5220 |
| GCTATAGCAA | CAACAGCCAT | GGGCTCCCCA | AAGGAAGTCA | TTTTCTCAGA | CATCACTGAA | 5280 |
| AATTCTGGCTA | CTGTCAGCTG | GAGGGCACCC | ACGGCCCAAG | TGGAGAGCTT | CCGGATTACC | 5340 |
| TATGTGCCCA | TTACAGGAGG | TACACCCCTCC | ATGGTAACGT | TGGACGGAAC | CAAGACTCAG | 5400 |
| ACCAGGCTGG | TGAAACTCAT | ACCTGGCGTG | GAGTACCTTG | TCAGCATCAT | CGCCATGAAG | 5460 |
| GGCTTTGAGG | AAAGTGAACC | TGTCTCAGGG | TCATTCCACCA | CAGCTCTGGA | TGGCCCATCT | 5520 |
| GGCCTGGTGA | CAGCCAACAT | CACTGACTCA | GAAGCCTTGG | CCAGGTGGCA | GCCAGCCATT | 5580 |
| GCCACTGTGG | ACAGTTATGT | CATCTCCTAC | ACAGGGCGAGA | AAGTGCCAGA | AATTACACGC | 5640 |
| ACGGGTGTCG | GGAACACAGT | GGAGTATGCT | CTGACCGACC | TCGAGCCTGC | CACCGGAATAC | 5700 |
| ACACTGAGAA | TCTTGAGA | GAAAGGGCCC | CAGAAGAGCT | CAACCATCAC | TGCCAAGTTC | 5760 |
| ACAACAGACC | TCGATTCTCC | AAGAGACTTG | ACTGCTACTG | AGGTTCAGTC | GGAAACTGCC | 5820 |
| CTCCTTACCT | GGCGACCCCC | CCGGGCATCA | GTCACCGGTT | ACCTGCTGGT | CTATGAATCA | 5880 |
| GTGGATGGCA | CAGTCAAGGA | AGTCATTGTTG | GGTCCAGATA | CCACCTCTTA | CAGCCTGGCA | 5940 |
| GACCTGAGCC | CATCCACCCA | CTACACAGCC | AAGATCCAGG | CACTCAATGG | GCCCCCTGAGG | 6000 |
| AGCAATATGA | TCCAGGACAT | CTTCACCACA | ATTGGACTCC | TGTACCCCTT | CCCCAAGGAC | 6060 |
| TGCTCCCAAG | CAATGCTGAA | TGGAGACACC | ACCTCTGGCC | TCTACACCAT | TTATCTGAAT | 6120 |
| GGTGATAAGG | CTCAGGGCGT | GGAAAGTCTTC | TGTGACATGA | CCTCTGATGG | GGGGTGGATGG | 6180 |
| ATTGTGTTCC | TGAGACGCAA | AAACGGACGC | GAGAACCTCT | ACCAAAACTG | GAAGGCATAT | 6240 |
| GCTGCTGGAT | TTGGGGACCG | CAGAGAAAGAA | TTCTGGCTTG | GGCTGGACAA | CCTGAACAAA | 6300 |
| ATCACAGCCC | AGGGGCAGTA | CGAGCTCCGG | GTGGACCTGC | GGGACCATGG | GGAGACAGCC | 6360 |
| TTTGCTGTCT | ATGACAAGTT | CAGCGTGGGA | GATGCCAAGA | CTCGCTACAA | GCTGAAGGTG | 6420 |
| GAGGGGTACA | GTGGGACAGC | AGGTGACTCC | ATGGCTTACCC | ACAATGGCAG | ATCCTTCTCC | 6480 |
| ACCTTGACA | AGGACACAGA | TTCAAGCCATC | ACCAACTGTG | CTCTGTCTAC | AAGGGGCTTC | 6540 |
| TGGTACAGGA | ACTGTCAACCG | TGTCACCTG | ATGGGGAGAT | ATGGGGACAA | TAACCACAGT | 6600 |
| CAGGGCGTTA | ACTGGTTCCA | CTGGAAGGGC | CACGAACACT | CAATCCAGGT | TGCTGAGATG | 6660 |
| AAGCTGAGAC | CAAGCAACTT | CAGAAATCTT | GAAGGCAGGC | GCAAAAGGGC | ATAAATTGGA | 6720 |
| GGGACCACTG | GGTGAGAGAG | GAATAAGGCG | GCCCCAGAGCG | AGGAAAGGAT | TTTACCAAAG | 6780 |
| CATCAATACA | ACCAGCCAA | CCATCGGTCC | ACACCTGGC | ATTGGGTGAG | AATCAAAGCT | 6840 |
| GACCATGGAT | CCCTGGGGCC | AACGGCAACA | GCATGGGC | CACCTCCCT | GTGATTTCTT | 6900 |
| TCTTGCACC | AAAGACATCA | GTCTCCAACA | TGTTCTGTT | TTGTTGTTG | ATTCAAGAAA | 6960 |
| AATCTCCCAG | TGACAACATC | GCAATAGTTT | TTTACTTCTC | TTAGGTGGCT | CTGGGATGGG | 7020 |
| AGAGGGGTAG | GATGTACAGG | GGTAGTTTGT | TTTAGAACC | GCCGTATTTT | ACATGAAGCT | 7080 |
| GTATAATTAA | TTGTCATTAT | TTTGTTAGC | AAAGATTAAA | TGTGTCAATTG | GAAGCCATCC | 7140 |
| CTTTTTTAC | ATTCATACA | ACAGAAACCA | GAAAAGCAAT | ACTGTTCCA | TTTTAAGGAT | 7200 |
| ATGATTAATA | TTATTAATAT | AATAATGATG | ATGATGATGA | TGAAAACCAA | GGATTTTC | 7260 |
| AGAGATCTT | CTTTCCAAAAA | CATTCTGG | CAGTACCTGA | TTGTATTTT | TTTTAAATA | 7320 |
| AAAGCACAAG | TACTTTGAA | AAAAAA | | | | 7346 |

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) Länge: 17 Basenpaare
- (B) Art: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..17

- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

GGAGGTGGTA CCCCGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14

- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14

- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

ERSATZBLATT (REGEL 26)

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 12 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

ERSATZBLATT (REGEL 26)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

AAAGGAAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

GGTCGGTTTG GGTGG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

GGCCGTGTTG GCTGT

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 16 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

TCACCCCTCT TTCTGG

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 15:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 16:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang

ERSATZBLATT (REGEL 26)

- (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHL SSEL: exon
 - (B) LAGE:1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 17:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHL SSEL: exon
 - (B) LAGE:1..15
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 18:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHL SSEL: exon
 - (B) LAGE:1..11
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 19:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHL SSEL: exon

ERSATZBLATT (REGEL 26)

(B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 13 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..13

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

CCACAGAAAG AAC

13

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

GGAGGTGGTA CCCCCGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 23:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 24:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 25:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 17 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 26:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 12 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure

ERSATZBLATT (REGEL 26)

11

- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins„ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins„ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL̄SSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

AAAGGAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) L̄NGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins„ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK̄LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

12

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

GGTCGGTTTG GGTGG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 30:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 31:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

GGCCGTGTTTC GCTGT

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 32:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

TCACCCCTCT TTCTGG

16

ERSATZBLÄTT (REGEL 26)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 33:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 34:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 35:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleins „ure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 35:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 36:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 15 Basenpaare

ERSATZBLATT (REGEL 26)

14

- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL SSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 36:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 37:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL SSEL: exon
- (B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 37:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 38:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHL SSEL: exon
- (B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 38:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 39:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 13 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEK LS: DNA (genomisch)

ERSATZBLATT (REGEL 26)

15

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..13

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 39:

CCACAGAAAG AAC

13

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 40:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 40:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 41:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 41:

GGAGGTGGTA CCCCCGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 42:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 42:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 43:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 43:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 44:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 44:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 45:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 45:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 46:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

17

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleins „ure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 46:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 47:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 47:

AAAGGAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 48:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 48:

GGTCGGTTTG GGTGG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 49:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

ERSATZBLATT (REGEL 26)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 49:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 50:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 50:

GGCCGTGTTTC GCTGT

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 51:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 51:

TCACCCCTCT TTCTGG

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 52:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 52:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 53:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 53:

AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 54:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 54:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 55:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleins „ure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..15
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 55:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 56:

ERSATZBLATT (REGEL 26)

20

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 56:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 57:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 57:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 58:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 13 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÖLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..13

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 58:

CCACAGAAAG AAC

13

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|---|--|--|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12N 15/11, A61K 31/70, C07H 21/00, C12Q 1/68 | | A3 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/25819 |
| | | | (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. Mai 1999 (27.05.99) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06868 | | (81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). | |
| (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Oktober 1998 (29.10.98) | | | |
| (30) Prioritätsdaten: 197 50 702.6 15. November 1997 (15.11.97) DE | | | |
| (71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE). | | | |
| (72) Erfinder; und | | Veröffentlicht | |
| (75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): PEYMAN, Anuschirwan [DE/DE]; Zeilsheimer Strasse 46, D-65779 Kelkheim (DE). UHLMANN, Eugen [DE/DE]; Zum Talblick 31, D-61479 Glashtütten (DE). WEISER, Caroline [DE/DE]; Karl-Staib-Strasse 37, D-65795 Hattersheim (DE). | | <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> | |
| (74) Gemeinsamer Vertreter: HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH; Patent- und Lizenzabteilung, Gebäude K 801, D-65926 Frankfurt am Main (DE). | | (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 10. September 1999 (10.09.99) | |

(54) Title: ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES AGAINST TENASCIN FOR TREATING VITILIGO**(54) Bezeichnung:** ANTISENSE OLIGONUKLEOTIDE GEGEN TENASCIN ZUR BEHANDLUNG VON VITILIGO**(57) Abstract**

The invention relates to specific, optionally modified oligonucleotides with a length of up to 18 nucleotides. Said oligonucleotides correspond to segments of tenascin-coding sequences or can bind to these sequences. The invention also relates to the production and use of the oligonucleotides, for example for the specific inhibition of the expression of tenascin and for producing medicaments used to treat vitiligo.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechen bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|-----------------------------------|----|---|----|--------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidschan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/EP 98/06868

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 C12N15/11 A61K31/70 C07H21/00 C1201/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 6 C12N A61K C07H C12O

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|------------------------------|
| X | WO 94 21664 A (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORP ; DENNER LARRY A (US); REGE AJAY A (US); D) 29 September 1994 (1994-09-29) cited in the application page 3, line 15 - line 26 page 4, line 23 - page 5, line 17 page 10, line 10 - page 11, line 12 page 17, line 9 - page 23, line 2 claims --- | 1-8, 13, 16-18, 20, 21 |
| Y | DE 195 02 912 A (HOECHST AG) 1 August 1996 (1996-08-01) the whole document --- | 4-12, 14-16, 20-23 |
| Y | --- | 4-12, 14-16, 20-23 |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

5 July 1999

20/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Andres, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/06868

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| A | WOOLF T M ET AL: "SPECIFICITY OF ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES IN VIVO" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 89, 1 August 1992 (1992-08-01), pages 7305-7309, XP000574994 the whole document --- | 1 |
| A | PEYMAN A ET AL: "MINIMALLY MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES-COMBINATION OF END-CAPPING AND PYRIMIDINE-PROTECTION" BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, vol. 377, no. 1, January 1996 (1996-01), pages 67-70, XP002041771 cited in the application the whole document --- | 4-11 |
| A | LE POOLE I C ET AL: "Tenascin is overexpressed in vitiligo lesional skin and inhibits melanocyte adhesion." BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, (1997 AUG) 137 (2) 171-8., XP002100599 cited in the application the whole document --- | |
| A | O'DONNELL D B ET AL: "TENASCIN IS ABUNDANT IN THE SKIN OF VITILIGO PATIENTS." J INVEST DERMATOL. (1992) 98 (4), PAGE 620, ABSTRACT 409., XP002100600 abstract & 1992 ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, BALTIMORE, MARYLAND, USA, APRIL 29-MAY 2, 1992. , --- | |
| A | TORRENCE P F ET AL: "TARGETING RNA FOR DEGRADATION WITH A (2'-5')OLIGOADENYLATE-ANTISENSE CHIMERA" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 90, no. 4, February 1993 (1993-02), pages 1300-1304, XP000644528 the whole document --- | 4-6 |
| A | ORTIGAO J F R ET AL: "ANTISENSE EFFECT OF OLIGODEOXYNUCLEOTIDES WITH INVERTED TERMINAL INTERNUCLEOTIDIC LINKAGES: A MINIMAL MODIFICATION PROTECTING AGAINST NUCLEOLYTIC DEGRADATION" ANTISENSE RESEARCH AND DEVELOPMENT, vol. 2, no. 2, 1 January 1992 (1992-01-01), pages 129-146, XP000573884 the whole document ----- | 4-6 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/06868

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/06868

The International Searching Authority has established that this international application contains multiple (groups of) inventions as follows:

1. Claim nos.: 1-23 (all in part)

Oligonucleotides which bind to a nucleic acid of a human tenascin and inhibit the expression thereof, said oligonucleotides having one of the following SEQ IDs: 2-5, 7, 10, 18, 19, 21-24, 26, 29, 27, 28, 40-43, 45, 48, 56 or 57

2. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 6, 8, 9, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 39, 44, 46, 47, 53, 55 and 58

3. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 11, 30 and 49

4. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 12, 31 and 50

5. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 13, 32 and 51

6. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 14, 33 and 52

7. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 16, 35 and 54.

Continuation of field I.1

Although claims 13-15 and 19 relate to a method of treatment/a method of diagnosis of/which is carried out on the human/animal body (in so far as they concern *in vivo* methods), the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/06868

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | | | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|---|------------|------------------|
| WO 9421664 | A 29-09-1994 | AU 6524294 | A | 11-10-1994 | |
| | | MX 9402222 | A | 31-01-1995 | |
| DE 19502912 | A 01-08-1996 | AU 4074795 | A | 08-08-1996 | |
| | | CA 2168409 | A | 01-08-1996 | |
| | | EP 0726274 | A | 14-08-1996 | |
| | | JP 8238093 | A | 17-09-1996 | |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C12N15/11 A61K31/70 C07H21/00 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N A61K C07H C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie ^a | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------------------|--|------------------------------|
| X | WO 94 21664 A (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORP ; DENNER LARRY A (US); REGE AJAY A (US); D) 29. September 1994 (1994-09-29) in der Anmeldung erwähnt Seite 3, Zeile 15 - Zeile 26 Seite 4, Zeile 23 - Seite 5, Zeile 17 Seite 10, Zeile 10 - Seite 11, Zeile 12 Seite 17, Zeile 9 - Seite 23, Zeile 2 Ansprüche | 1-8, 13, 16-18, 20, 21 |
| Y | --- | 4-12, 14-16, 20-23 |
| Y | DE 195 02 912 A (HOECHST AG) 1. August 1996 (1996-08-01) das ganze Dokument --- | 4-12, 14-16, 20-23 |
| | | -/- |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Rechercheberichts

5. Juli 1999

20/07/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andres, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
|--|---|--------------------|
| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| A | WOOLF T M ET AL: "SPECIFICITY OF ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES IN VIVO" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 89, 1. August 1992 (1992-08-01), Seiten 7305-7309, XP000574994 das ganze Dokument --- | 1 |
| A | PEYMAN A ET AL: "MINIMALLY MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES-COMBINATION OF END-CAPPING AND PYRIMIDINE-PROTECTION" BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, Bd. 377, Nr. 1, Januar 1996 (1996-01), Seiten 67-70, XP002041771 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument --- | 4-11 |
| A | LE POOLE I C ET AL: "Tenascin is overexpressed in vitiligo lesional skin and inhibits melanocyte adhesion." BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, (1997 AUG) 137 (2) 171-8., XP002100599 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument --- | |
| A | O'DONNELL D B ET AL: "TENASCIN IS ABUNDANT IN THE SKIN OF VITILIGO PATIENTS." J INVEST DERMATOL. (1992) 98 (4), PAGE 620, ABSTRACT 409., XP002100600 Zusammenfassung & 1992 ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, BALTIMORE, MARYLAND, USA, APRIL 29-MAY 2, 1992. , --- | |
| A | TORRENCE P F ET AL: "TARGETING RNA FOR DEGRADATION WITH A (2'-5')OLIGOADENYLATE-ANTISENSE CHIMERA" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 90, Nr. 4, Februar 1993 (1993-02), Seiten 1300-1304, XP000644528 das ganze Dokument --- | 4-6 |
| A | ORTIGAO J F R ET AL: "ANTISENSE EFFECT OF OLIGODEOXYNUCLEOTIDES WITH INVERTED TERMINAL INTERNUCLEOTIDIC LINKAGES: A MINIMAL MODIFICATION PROTECTING AGAINST NUCLEOLYTIC DEGRADATION" ANTISENSE RESEARCH AND DEVELOPMENT, Bd. 2, Nr. 2, 1. Januar 1992 (1992-01-01), Seiten 129-146, XP000573884 das ganze Dokument ----- | 4-6 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

| WEITERE ANGABEN | PCT/ISA/ 210 |
|-------------------------------------|---|
| | Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich: |
| 1. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Oligonukleotide die an eine Nukleinsäure eines humanen Tenascins binden und dessen Expression inhibieren, wobei die Oligonukleotide eines der SEQ IDs 2-5, 7, 10, 18, 19, 21-24, 26, 29, 27, 28, 40-43, 45, 48, 56 oder 57 hat. |
| 2. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 6, 8, 9, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 39, 44, 46, 47, 53, 55 und 58 beziehend |
| 3. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 11, 30 und 49 beziehend. |
| 4. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 12, 31 und 50 beziehend. |
| 5. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 13, 32 und 51 beziehend. |
| 6. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 14, 33 und 52 beziehend. |
| 7. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise) | Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 16, 35 und 54 beziehend. |

| WEITERE ANGABEN | PCT/ISA/ 210 |
|---|--------------|
| Fortsetzung von Feld I.1 | |
| <p>Obwohl die Ansprüche 13-15 und 19 (insofern es sich um in vivo Verfahren handelt) sich auf ein Verfahren zur Behandlung/ein Diagnostizierverfahren des/das am menschlichen/tierischen Körpers beziehen/ausgeführt wird, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.</p> | |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-----------|-------------------------------|
| WO 9421664 A | 29-09-1994 | AU | 6524294 A | 11-10-1994 |
| | | MX | 9402222 A | 31-01-1995 |
| DE 19502912 A | 01-08-1996 | AU | 4074795 A | 08-08-1996 |
| | | CA | 2168409 A | 01-08-1996 |
| | | EP | 0726274 A | 14-08-1996 |
| | | JP | 8238093 A | 17-09-1996 |